

TESIS DE DOCTORADO

# **ESTUDIO DE LAS BASES GENÉTICAS DE LAS CARDIOPATÍAS FAMILIARES Y LAS ARRITMIAS INDUCIDAS POR FÁRMACOS**

MARINA MARTÍNEZ MATILLA

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL (EDIUS)  
PROGRAMA DE DOCTORADO 99/2011 EN MEDICINA MOLECULAR

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2020



## DECLARACIÓN DO AUTOR/A DA TESE

D./Dña. **Marina Martínez Matilla**

Título da tese: **Estudio de las bases genéticas de las cardiopatías familiares y las arritmias inducidas por fármacos**

Presento a miña tese, seguindo o procedemento axeitado ao Regulamento, e declaro que:

- 1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
- 2) De ser o caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
- 3) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.

E comprométome a presentar o Compromiso Documental de Supervisión no caso de que o orixinal non estea na Escola.

En **Santiago de Compostela, 4 de outubro de 2020.**

**Sinatura electrónica**





## AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR/TITOR DA TESE

D./Dna. **María Brión Martínez**

En condición de: **Director/a**

Título da tese: **Estudio de las bases genéticas de las cardiopatías familiares y las arritmias inducidas por fármacos**

INFORMA/N:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Marina Martínez Matilla, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En Santiago de Compostela, 28 de Setembro de 2020

Sinatura electrónica









## AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR/TITOR DA TESE

D./Dna. **Ángel Carracedo Álvarez**

En condición de: **Titor/a e director/a**

Título da tese: **Estudio de las bases genéticas de las cardiopatías familiares y las arritmias inducidas por fármacos**

INFORMA/N:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Marina Martínez Matilla, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En Santiago de Compostela, 28 de Setembro de 2020

Sinatura electrónica







# **FINANCIACIÓN**



## FINANCIACIÓN

*Los estudios aquí presentados han contado con el apoyo de Plan Estatal de I+D+i 2008-2011 y 2013-2016, Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación (ISCIII-SGEFI) del **Instituto de Salud Carlos III** (ISCIII) y del **Fondo Europeo de Desarrollo Regional** (FEDER) (subvenciones número: EMER 07/018, PI10/00851, PI13/00933, PI16/00903, RD12/0042/0037), **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) de Brasil** (subvención número: 01097/2014-5).*

*La estancia de investigación de Marina Martínez Matilla ha sido financiada con la beca de movilidad para Jóvenes Profesores e Investigadores, dentro del Programa “**Becas Iberoamérica – Santander Universidades España**”, en su convocatoria de 2014.*





# **AGRADECIMIENTOS**







## AGRADECIMIENTOS

*Aún no he empezado y ya está cayéndome la lagrimita recordando mis años en Santiago... Conociéndome, creo que casi tendría para otra tesis si pudiera plasmar lo agradecida que estoy a tanta gente que me ha cuidado y me ha acompañado estando lejos de casa.*

*Gracias, en primer lugar, a Ángel, por acogerme con los brazos abiertos en la gran familia de Xenómica. Gracias por tu cercanía y tu humildad. Todo empezó con esa primera charla que tuvimos en la UPO, en Sevilla. Gracias a ti comenzó allí mi aventura junto a Pilar Sanz, jubilada, pero científica de corazón y mejor persona. Quiero agradecer que me acogiera en los inicios de este periplo. ¡Siempre te estaré muy agradecida, Pilar!*

*Gracias a ti, María, por integrarme en el grupo de Cardio. Estaba como un flan la primera vez que bajé al hospital para conocerte y hacer la entrevista. Gracias por confiar en mí, por cultivar en el grupo la confianza, la integridad y el buen hacer; gracias por crear y mantener un grupo tan maravilloso y por permitirme ser parte de él. Gracias por tantos años de paciencia. Os deseo todo lo mejor, de corazón.*

*Álex, gracias y mil gracias, por tu dedicación y tu tenacidad; por tus explicaciones y tus consejos, por esas tardes de charlas en el laboratorio, por las excursiones y las clases de tiro con arco. Gracias por esos últimos ánimos que me dieron fuerza para acabar. Ojalá algún día volvamos a compartir una horchata juntos, ¡pero en el mediterráneo! Gracias, Ro, por tantos almuerzos que hemos compartido, Sandra, por las risas y los pasos de baile, Ángela por las recetas y los DIY; moitas graciñas, Eva, polo teu ímpeto, a túa sinceridade e os teus ánimos. Gracias, Mariña, por compartir nervios y alegrías, por transmitirme fuerza y serenidad. Gracias a todos por hacer esta tesis posible.*

*Montse... mi perla de Vigo, compañera de Cardio y, sobre todo, amiga. No sé cómo agradecerte todo lo que me has dado, todo lo que me has ayudado. Cómo echo de menos esos cafés diarios que compartíamos en los que arreglábamos nuestros mundos. Pero, sobre todo, echo de menos tenerte al lado en la mesa cada día, no tener que tirar de teléfono para contarnos nuestras últimas novedades, el chiste de Gevoneva o el último paper publicado de MSC. Recuerdo, como si fuera ayer, el momento en que nos despedimos antes de que yo me volviera a Valencia. Bueno, ¡en realidad recuerdo tantos buenos momentos que quiero seguir sumando más y más a pesar de estar lejos! ¡Ojalá te tuviera más cerca, gaviñana!*

*Por supuesto, gracias a todos los compañeros del grupo de Xenómica, FPGMX y CEGEN, sin vosotros este trabajo no hubiera sido posible: Bea, Inés, María Torres, Juan...; a las chicas y chicos del café por las risas y los buenos ratos que hemos pasado: Ana, Marta, Ceres, Andrés, Marcos... Gracias, Jorge, por tu inestimable ayuda bioinformática y tus aportaciones insuperables en “Planazos xenómicos”.*

*Beli y Breixo, corasones de horchata, graciñas por los buenos ratos en Santiago, en Viveiro ¡y en Valencia! Por acompañarme en los buenos y malos momentos, por las risas y las aventuras. Cuando nos veamos brindaremos por la amistad que perdura y por las comilonas que fueron y serán. Laura, Pilar, son muchos los buenos recuerdos juntas. ¡Espero que pronto podamos vernos de nuevo!*

*Yarimar, Ezequiel, Lilly, Carol, con vosotros Santiago estaba lleno de música y alegría. ¡Qué bonitos recuerdos! Cada uno en una parte del mundo, ojalá la vida vuelva a juntarnos otra vez. Danel, gracias por las risas, los bailes y el cocido.*

*Obrigada, Mario, por toda a atenção dispensada e por me receber em seu grupo do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Muito obrigada ao gentil pessoal do IPq do Hospital das Clínicas por sua valiosa ajuda. Também quero escrever algumas palavras de carinho para Ju, Daniel e tia Marisa. Minha estadia no Brasil é uma das melhores experiências da minha vida graças a vocês.*

*En todos estos años, he pasado del calor intenso de Sevilla a la lluvia casi diaria de Santiago de Compostela y, a pesar de ser tan diferentes, en cada sitio al que he ido he tenido la suerte de tener una familia adoptiva.*

*Gracias, María, por acogerme como una más en tu familia, por esas casi 24 horas juntas día tras día, por dejarme cuidar de Simón en su primer añito. Gracias por todo. Gracias Rebe, Coki, Ángeles y “Toño”. Gracias también a ti, Miguel, que empezaste siendo el novio de “María G” para acabar siendo un gran amigo. ¡Os echo de menos!*

*Gracias y mil gracias a Bea y a su maravillosa familia tomareña, Lorenzo, Mari Trini y José. Vosotros fuisteis mi gran apoyo en Sevilla. Han sido horas y horas de charlas, cafés, sofás y trajes de flamenca. Nos vamos a ver más pronto que tarde.*

*No me olvido de los que han estado y estarán siempre, de mi gran familia valenciana. Gracias a mi familia y amigos, por las palabras a tiempo y los ánimos para acabar, siempre sacándome una pequeña sonrisa y dándome fuerza para continuar. Gracias a la familia que se escoge, sobre todo, gracias a mis nueve, siempre entendiéndome y dándome mimos, amenizando mis confinamientos delante del ordenador. Casi treinta años de familia “cansina”... ¡y los que quedan!*

*Gracias, abuelitos, por transmitirme resiliencia, siempre tan necesaria, y por regalarme 33 años de amor.*

*Gracias, papás, por estar ahí siempre, por cuidarme y acompañarme, por transmitirme valentía para que siga adelante, a pesar los obstáculos que me encuentre. Gracias por el amor y los férreos principios que me habéis transmitido.*

*Por último, gracias a ti, Sergio, por tu cariño y tu apoyo incondicional. Por darme una familia adoptiva a la que adoro. Por sosegar me en los momentos de nervios y tirar de mí cuando lo he necesitado. Gracias por sacarme sonrisas, incluso en los peores momentos. Gracias por los planes improvisados, por las risas tontas, por las horas al teléfono Santiago-Valencia, por las locuras que compartimos y la desconexión que nos merecemos. Por fin, cerramos juntos esta etapa tuya y mía.*



## **ÍNDICE**



## ÍNDICE

FINANCIACIÓN .....	vii
AGRADECIMIENTOS .....	xi
ÍNDICE .....	xv
RESUMEN .....	xvii
SUMMARY .....	xix
GLOSARIO .....	xxi
LISTADO DE TABLAS .....	xxv
LISTADO DE ILUSTRACIONES .....	xxvi
INTRODUCCIÓN .....	3
1. Muerte súbita cardiaca .....	3
1.1. Definición y epidemiología.....	3
1.2. Etiología y factores de riesgo.....	5
2. Fisiología del corazón .....	6
2.1. Estructura del corazón.....	6
2.2 Actividad eléctrica del corazón.....	12
3. Las cardiopatías familiares y sus bases genéticas y moleculares .....	18
3.1 Miocardiopatías estructurales .....	21
3.2 Síndromes arritmogénicos hereditarios (canalopatías) .....	34
4 Arritmias inducidas por fármacos: proarritmias .....	46
4.1 Proarritmias inducidas por antidepresivos y antipsicóticos. ....	48
4.2 Farmacogenética de las proarritmias. Bases genéticas y moleculares de síndrome de QT largo y síndrome de Brugada inducidos por fármacos. ....	50
5. Abordaje genético de la muerte súbita cardiaca en la práctica clínica y forense .....	61
5.1 Estudio genético de las cardiopatías familiares .....	61
5.2 Estudio genético de la muerte súbita cardiaca .....	65
5.3 Estudio farmacogenético de las proarritmias .....	66
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	73

METODOLOGÍA Y RESULTADOS .....	77
Aspectos éticos y legales.....	77
Resultados .....	79
ARTÍCULO 1: NEXT GENERATION SEQUENCING CHALLENGES IN THE ANALYSIS OF CARDIAC SUDDEN DEATH DUE TO ARRHYTHMOGENIC DISORDERS.....	81
ARTÍCULO 2: MASSIVE PARALLEL SEQUENCING APPLIED TO THE MOLECULAR AUTOPSY IN SUDDEN CARDIAC DEATH IN THE YOUNG. ....	91
ARTÍCULO 3: MASSIVE PARALLEL SEQUENCING EVALUATION IN THE DIAGNOSIS OF SUDDEN CARDIAC DEATH RELATED DISEASES IN YOUNG ADULTS. ....	105
ARTÍCULO 4: GENETIC SUSCEPTIBILITY IN PHARMACODYNAMIC AND PHARMACOKINETIC PATHWAYS UNDERLYING DRUG-INDUCED ARRHYTHMIA AND SUDDEN UNEXPLAINED DEATHS. ....	121
DISCUSIÓN GENERAL.....	147
CONCLUSIONES .....	165
CONCLUSIONS .....	167
BIBLIOGRAFÍA.....	171
ANEXOS.....	204
Anexo I: Permisos de copyright de las ilustraciones. ....	204

## RESUMEN

En la presente tesis doctoral, se aborda el estudio del componente genético que subyace en las cardiopatías familiares, íntimamente relacionadas con la muerte súbita cardíaca, y las arritmias inducidas por fármacos, potencialmente letales incluso en personas aparentemente sanas. Con la secuenciación masiva como hilo conductor, la tesis se ha desarrollado en dos grandes bloques: el primero basado en el diseño y validación la secuenciación masiva como herramienta para el estudio y diagnóstico de las cardiopatías familiares, y el segundo gran bloque centrado en el estudio farmacogenético de las arritmias y la muerte súbita cardíaca inducidas por fármacos.

Se ha validado una nueva estrategia para el estudio de las cardiopatías familiares mediante secuenciación masiva de un panel de genes candidatos. Se estudiaron casos del ámbito clínico y forense, consiguiendo rendimientos diagnósticos de en torno al 22% y 20% en pacientes con miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho y síndrome de QT largo, respectivamente, pero no se obtuvieron resultados positivos en los casos de muerte súbita cardíaca inexplicable. Con el objetivo de optimizar la estrategia, realizamos una revisión exhaustiva de literatura científica publicada hasta el momento y ampliamos el número de genes a estudio, consiguiendo así un rendimiento medio del 26% y hasta un 33% en pacientes con miocardiopatía hipertrófica. En los casos en los que fue posible, se evaluó la segregación de la variante con la enfermedad en la familia. La principal limitación para conseguir mayores rendimientos fue la enorme cantidad de variantes de significado incierto identificadas, en gran parte por la falta de estudios de cosegregación familiar de las variantes.

En el estudio farmacogenético de las arritmias inducidas por fármacos, se abordó en paralelo la vía farmacodinámica, mediante secuenciación masiva, y la vía farmacocinética, mediante genotipado. La secuenciación masiva nos permitió identificar dos pacientes con variantes modificadoras del fenotipo que consideramos buenos biomarcadores farmacogenéticos de riesgo proarrítmico en los genes *KCNH2* y *KCNE1*, asociados con síndromes arritmogénicos hereditarios. Los resultados obtenidos refuerzan la relevancia de la actividad metabólica de las enzimas CYP2D6 y CYP2C19 en el riesgo de proarritmia y/o prolongación del QT inducidas por antidepresivos y destacan la alteración de  $I_{Kr}$  como mecanismo subyacente mayoritario en la proarritmia.

Los resultados de esta tesis doctoral confirman el valor de la secuenciación masiva como herramienta diagnóstica en las cardiopatías familiares, así como su utilidad para el estudio de las arritmias inducidas por fármacos. Los resultados destacan la necesidad de realizar estudios de cosegregación familiar para determinar la patogenicidad de las variantes genéticas. Finalmente, se ha puesto de relieve la importancia del estudio farmacogenético de los genes asociados con síndromes arritmogénicos y las variantes alélicas de los genes *CYP2C19* y *CYP2D6* en relación con la cardiotoxicidad inducida por antidepresivos y antipsicóticos.





## SUMMARY

The present doctoral thesis deals with the study of the genetic component underlying inherited cardiomyopathies and cardiac channelopathies, closely related to sudden cardiac death, and drug-induced arrhythmias, potentially lethal even in apparently healthy people. With massive sequencing as the guiding thread, this thesis has been developed in two large blocks: the first based on the design and validation of massive parallel sequencing as a tool for the study and diagnosis of inherited cardiac diseases, and the second large block, focused on the pharmacogenetic study of drug-induced arrhythmias and sudden cardiac death.

We were able to validate a new candidate-gene massive parallel sequencing approach for the study of inherited cardiomyopathies and cardiac channelopathies. Clinical and forensic cases were studied and diagnostic yield of around 22% and 20% was achieved in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and long QT syndrome, respectively, but no positive results were obtained in cases of sudden unexplained cardiac death. In order to optimize the strategy, we carried out an exhaustive review of the scientific literature published so far and expanded the number of genes to be studied, achieving an average diagnostic yield of 26% and up to 33% in patients with hypertrophic cardiomyopathy. When other relatives were available, the segregation of the variant with the disease was evaluated in the family. The main limitation to achieving higher yields was the huge number of variants of uncertain significance identified, largely due to the lack of familial cosegregation studies of the variants.

In the pharmacogenetic study of drug-induced arrhythmias both pharmacodynamic pathway through massive sequencing and pharmacokinetic pathway through medium-throughput genotyping, were addressed at the same time. Massive parallel sequencing allowed us to identify two patients with genetic modifier variants that we considered to be good pharmacogenetic biomarkers of proarrhythmic risk in the *KCNH2* and *KCNE1* genes, both associated with inherited arrhythmogenic syndromes. The results obtained reinforce the relevance of the metabolic activity of CYP2D6 and CYP2C19 enzymes in the risk of antidepressant-induced proarrhythmia and / or QT prolongation and highlight the alteration of  $I_{Kr}$  as the major underlying mechanism in proarrhythmia.

The results of this doctoral thesis confirm the value of massive parallel sequencing as a diagnostic tool in inherited cardiomyopathies and cardiac channelopathies, as well as its usefulness for the study of drug-induced arrhythmias. The results highlight, however, the need to conduct family cosegregation studies to determine the causal role of genetic variants. Finally, the relevance of the pharmacogenetic study of the genes associated with arrhythmogenic syndromes and the allelic variants of the *CYP2C19* and *CYP2D6* genes in relation to antidepressant and antipsychotic-induced cardiotoxicity has been highlighted.



## GLOSARIO

- ACh: acetilcolina, 13
- ACGS: *Association for Clinical Genomic Science*, 149
- ACMG: *American College of Medical Genetics and Genomics*, 64
- ADN: ácido desoxirribonucleico, 50
- ADP: adenosín difosfato, 10
- AECVP: *Association for European Cardiovascular Pathology*, 66
- AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 60
- AHA: *American Heart Association*, 19
- ALVC: *Arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy*, 24
- AMP: *Association for Molecular Pathology*, 64
- ARN: ácido ribonucleico, 42
- ARVC: *arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*, 4
- AS: *activity score*, 58
- ATC: antidepresivo tricíclico, 48
- ATP: adenosín trifosfato, 7
- AZCERT: *Arizona Center for Education and Research on Therapeutics*, 152
- Ca<sup>2+</sup>: iones de calcio, 6
- CaM: calmodulina, 37
- CEGEN: Centro Nacional de Genotipado, 156
- CEIC: Comité Ético de Investigación Clínica, 77
- CIE: Clasificación Internacional de Enfermedades, 4
- CNV: variación en el número de copias, 28
- Cp: concentración plasmática, 69
- CPIC: *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*, 58
- CPNDS: *Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety*, 67
- CYP: citocromo P450, 56
- DC: N-desmetilclomipramina, 159
- DI: discos intercalares, 8
- DM: Distrofia muscular, 20
- DPWG: *Royal Dutch Association for the advancement of Pharmacy-Pharmacogenetics Working Group*, 58
- ECG: electrocardiograma, 17
- Em: potencial de membrana, 14
- EMA: *European Medicines Agency*, 50
- ESC: *European Society of Cardiology*, 19
- FDA: *Food and Drug Administration*, 60
- GWAS: estudio de asociación de genoma completo, 38
- HERG: *human Ether-à-go-go-Related Gene*, 37
- ICH: Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Medicamentos de Uso Humano, 39
- IHM: *interacting-heads motif*, 10
- IM: metabolizadores intermedios, 57
- Indel: inserción-delección, 62
- INE: Instituto Nacional de Estadística, 5
- IRSN: inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina, 160
- ISFC: *International Society and Federation of Cardiology*, 19
- ISRS: inhibidores selectivos de recaptación de serotonina, 48
- K<sup>+</sup>: iones de potasio, 13

LADME: liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción, 55

LMM: meromiosina ligera, 7

MAF: minor allele frequency, 154

MALDI-TOF: *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight*, 156

MAVD: miocardiopatía arritmogénica ventrículo derecho, 4

MAVI: miocardiopatía arritmogénica ventrículo izquierdo, 27

MCA: miocardiopatía arritmogénica, 5

MCD: miocardiopatía dilatada, 5

MCH: miocardiopatía hipertrófica, 5

MCNC: miocardiopatía no compactada, 21

MCR: miocardiopatía restrictiva, 19

Mg<sup>+</sup>: iones de magnesio, 15

MLPA: *multiplex ligation-dependent probe amplification*, 63

MSC: muerte súbita cardíaca, 3

Na<sup>+</sup>: iones de sodio, 9

NAV: nódulo aurículoventricular, 14

NGS: *Next-generation sequencing*, 62

NM: metabolizadores normales, 57

NSA: nódulo sinoauricular, 14

ODV: O-desmetilvenlafaxina, 159

OMS: Organización Mundial de la Salud, 4

PA: potencial de acción cardíaco, 8

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, 63

PGRN: *Pharmacogenomics Research Network*, 67

pH: potencial de hidrógeno, 12

PM: metabolizadores pobres, 57

PPP: posdespolarizaciones precoces; EADs, early afterdepolarizations, 15

PPT: posdespolarizaciones tardías; DADs delayed afterdepolarizations 15

PRS: puntuación de riesgo poligénico; polygenic risk score, 152

QTc: intervalo QT corregido, 35

RAM: reacción adversa medicamentosa, 69

RNA: ácido ribonucleico, 8

RS: retículo sarcoplásmico, 6

SADS/SMSA: *sudden arrhythmic death syndrome*; síndrome de muerte súbita arritmica, 3

SBr: síndrome de Brugada, 5

SBr-IF: síndrome de Brugada inducido por fármacos, 47

SERCA: ATPasa transportadora de calcio del retículo sarcoplásmico, 8

SIDS/SMIS: *sudden infant death syndrome*; síndrome de muerte súbita del lactante, 3

SNP: polimorfismo de nucleótido único, 53

SOLiD: *Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection*, 79

SQTL: síndrome de QT largo, 5

SQTL-IF: síndrome de QT largo inducido por fármacos, 46

SQTC: síndrome de QT corto, 4

SUDI/MSII: *sudden unexpected/unexplained death in infancy*; muerte súbita inesperada/inexplicada infantil, 3

SUDS/SMI/SMISInex: *sudden unexpected/unexplained death syndrome*; síndrome de muerte súbita inesperada/inexplicada, 3

SUDEP: muerte súbita en epilepsia, 5

TdP: *Torsades de pointes*, 15

TdP-IF: *Torsades de pointes* inducido por fármacos, 46

TV: taquicardia ventricular, 15

TVPC: taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, 5

UM: metabolizadores ultrarrápidos, 58

USID: *unclassified sudden infant death*, 3

VI: ventrículo izquierdo, 21

VIP: *Very Important Pharmacogenes*, 70

VD: ventrículo derecho, 28

VUS: Variante de significado incierto; *Variant of Uncertain Significance*, 64





## LISTADO DE TABLAS

TABLA 1. PRINCIPALES CORRIENTES IÓNICAS, CANALES, SUBUNIDADES Y GENES QUE SE EXPRESAN EN EL CORAZÓN. ....	13
TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE LAS MIOCARDIOPATÍAS SEGÚN LA SOCIEDAD AMERICANA DE CARDIOLOGÍA .....	20
TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE LAS MIOCARDIOPATÍAS SEGÚN LA SOCIEDAD EUROPEA DE CARDIOLOGÍA .....	21
TABLA 4. GENES PRINCIPALES Y SUS PROTEÍNAS ASOCIADOS A MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA. ....	24
TABLA 5. GENES Y SUS PROTEÍNAS ASOCIADOS CON MIOCARDIOPATÍA RESTRICTIVA .....	26
TABLA 6. ALTERACIONES GENÉTICAS MÁS COMUNES Y EL FENOTIPO ASOCIADO EN LA MIOCARDIOPATÍA ARRITMOGÉNICA. ....	27
TABLA 7 GENES Y SUS PROTEÍNAS ASOCIADOS CON MIOCARDIOPATÍA ARRITMOGÉNICA DEL VENTRÍCULO DERECHO/IZQUIERDO.....	30
TABLA 8. GENES PRINCIPALES Y SUS PROTEÍNAS ASOCIADOS CON MIOCARDIOPATÍA DILATADA. ....	33
TABLA 9. BASES GENÉTICAS Y MOLECULARES DEL SÍNDROME DE QT LARGO .....	37
TABLA 10. BASES GENÉTICAS Y MOLECULARES DEL SÍNDROME DE QT CORTO.....	40
TABLA 11. BASES GENÉTICAS Y MOLECULARES DEL SÍNDROME DE BRUGADA .....	43
TABLA 12. BASES GENÉTICAS Y MOLECULARES DE LA TAQUICARDIA VENTRICULAR POLIMÓRFICA CATECOLAMINÉRGICA. ....	45
TABLA 13. FACTORES DE RIESGO DE <i>TORSADES DE POINTES</i> Y SÍNDROME DE BRUGADA INDUCIDOS POR ANTIDEPRESIVOS Y ANTIPSICÓTICOS. ....	47
TABLA 14. FÁRMACOS ANTIDEPRESIVOS Y ANTIPSICÓTICOS CON RIESGO CONOCIDO DE <i>TORSADES DE POINTES</i> .....	49
TABLA 15. FÁRMACOS ANTIDEPRESIVOS Y ANTIPSICÓTICOS PROARRÍTMICOS EN SÍNDROME DE BRUGADA .....	50
TABLA 16. EFECTO DE ANTIDEPRESIVOS Y ANTIPSICÓTICOS SOBRE LAS CORRIENTES IÓNICAS $I_{Kr}$ , $I_{Ca}$ , $I_{Na}$ .....	52
TABLA 17. ANTIDEPRESIVOS Y ANTIPSICÓTICOS METABOLIZADOS POR CYP2C19 Y CYP2D6.....	59
TABLA 18. GENES RECOMENDADOS POR LA AHA PARA EL ESTUDIO DE MIOCARDIOPATÍAS Y CANALOPATÍAS CARDIACAS. ....	64
TABLA 19. SELECCIÓN DE ASOCIACIONES FARMACOGÉNÉTICAS DE LA FDA CUYA EVIDENCIA RESPALDA RECOMENDACIONES DE MANEJO TERAPÉUTICO. ....	69
TABLA 20. RECOMENDACIONES CLÍNICAS DE FDA, CPIC, DPWG Y AEMPS SOBRE LAS INTERACCIONES FÁRMACO-GEN ENCONTRADAS EN NUESTRA COHORTE. ....	158



## LISTADO DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1. ESTRUCTURA BÁSICA DE LA SARCÓMERA. ....	7
ILUSTRACIÓN 2. ESTRUCTURA MOLECULAR DE LOS DISCOS INTERCALARES Y EL AREA COMPOSITA. ....	9
ILUSTRACIÓN 3. ACOPLAMIENTO EXCITACIÓN-CONTRACCIÓN EN EL MIOCARDIOCITO.....	11
ILUSTRACIÓN 4. FASES DEL POTENCIAL DE ACCIÓN CARDIACO Y CORRIENTES IÓNICAS QUE PARTICIPAN. ....	15
ILUSTRACIÓN 5. SISTEMA DE CONDUCCIÓN CARDIACO. ....	17
ILUSTRACIÓN 6. ELECTROCARDIOGRAMA SIN ALTERACIONES. ....	18
ILUSTRACIÓN 7. SÍNDROME DE QT LARGO. ....	35
ILUSTRACIÓN 8. SÍNDROME DE QT CORTO.. ....	39
ILUSTRACIÓN 9. SÍNDROME DE BRUGADA. ....	41
ILUSTRACIÓN 10. VARIABILIDAD GENÉTICA EN LA RESPUESTA A FÁRMACOS. ....	51
ILUSTRACIÓN 11. PROCESOS DE LA VÍA FARMACOCINÉTICA.....	55
ILUSTRACIÓN 12. NOMENCLATURA DE LAS ENZIMAS QUE COMPONEN EL CITOCROMO P-450.....	57
ILUSTRACIÓN 13. ESQUEMA DEL PASO DE GENOTIPO A FENOTIPO DE CYP2D6. ....	58



# **INTRODUCCIÓN**



## INTRODUCCIÓN

### 1. MUERTE SÚBITA CARDIACA

#### 1.1. Definición y epidemiología

La muerte súbita, por definición, es aquella muerte no violenta que tiene lugar de forma inesperada durante la primera hora desde el comienzo de los síntomas o, en caso de no ser presenciada, aquella que ocurre cuando el individuo fallecido ha sido visto con buena salud durante las 24 horas previas al fallecimiento. La muerte súbita cardiaca (MSC), aquella en la que se determina que la causa del fallecimiento es de origen cardiaco, se ha establecido en la literatura como la causa más frecuente de muerte súbita. Sin embargo, la causa de la muerte no siempre puede llegar a identificarse, y es por ello que se han acuñado otros términos para referirse a los diferentes contextos en los que tiene lugar la muerte súbita de causa desconocida. Para conocerlos, hay que acudir a la literatura tanto cardiológica como forense [1]–[3].

- Síndrome de muerte súbita arrítmica (SMSA o SADS, del inglés: *Sudden Arrhythmic Death Syndrome*): muerte súbita en individuos mayores de un año en la que las causas no cardíacas se han excluido, los resultados de la autopsia y el estudio toxicológico no revelan la causa de la muerte, el individuo tiene el corazón estructuralmente normal después de un estudio macroscópico e histológico, pero se sospecha una muerte arrítmica.
- Síndrome de muerte súbita infantil o síndrome de muerte súbita del lactante (SMSI o SIDS por sus siglas en inglés: *Sudden Infant Death Syndrome*): según la literatura cardiológica, este término se emplea cuando ocurre el síndrome de muerte súbita arrítmica en niños menores de un año. Los criterios forenses incluyen, además, que esta muerte debe ocurrir durante el sueño, así como una revisión exhaustiva del lugar de fallecimiento y de la historia clínica del fallecido.
- Síndrome de muerte súbita inexplicable (SMI, SMSInex, también conocida como SUDS, por sus siglas en inglés: *Sudden unexplained death syndrome*): muerte súbita en individuos mayores de un año en la que la información disponible no permite identificar la causa de la muerte, pero se sospecha una muerte arrítmica. Este término suscita cierta controversia ya que en la literatura cardiológica se aplica, en ocasiones, en ausencia de autopsia, mientras que en la literatura forense es acuñado por exclusión, cuando ante una autopsia negativa no se logra identificar la causa de la muerte.
- Muerte súbita inexplicable en la infancia (MSII también SUDI, por sus siglas en inglés *Sudden Unexplained Death in Infancy*): se utiliza este término cuando el síndrome de muerte súbita inexplicable tiene lugar en niños menores de un año con o sin autopsia, dependiendo de la fuente consultada. Como en el caso de los adultos, según criterios forenses este término se aplicaría por exclusión, cuando la autopsia no ha permitido identificar la causa de la muerte. En este último caso, la muerte súbita en la literatura también aparece como Muerte súbita infantil no clasificada (USID, del inglés *Unclassified Sudden Infant Death*).

Existen determinadas circunstancias en las que no hay un consenso entre la literatura cardiológica y forense. Una que llama la atención es la relacionada con la terminología utilizada ya que en la práctica forense el adjetivo “inexplicable” o “inexplicado” se aplica por exclusión,

cuando no se ha identificado la causa después de: la realización de una autopsia, la investigación de la escena donde tuvo lugar el fallecimiento, la revisión de la historia clínica del fallecido y su familia y el estudio de las circunstancias de la muerte. Sin embargo, en la literatura cardiológica, este término se utiliza en algunas ocasiones en ausencia de autopsia [1].

La falta de estandarización de los criterios para definir los distintos contextos de muerte súbita sin causa identificada y para consensuar los protocolos a seguir para su estudio multidisciplinar ha dificultado el cálculo de su prevalencia. Goldstein *et al.* analizaban recientemente esta problemática con respecto los casos de SIDS en su artículo publicado en septiembre de 2019, cuestión también extrapolable en cierto modo a la muerte súbita en el adulto [3]. En dicho artículo, evidencian la problemática describiendo las dificultades en torno a varias cuestiones: las evidencias necesarias para un diagnóstico de exclusión, la falta de consenso para la terminología utilizada, la codificación internacional por la OMS (Organización Mundial de la Salud) o los protocolos seguidos para el registro de defunción.

Esta problemática se refleja a la hora de consultar la incidencia de la MSC ya que existe gran disparidad según los países y las fuentes consultadas: las estadísticas varían en gran medida dependiendo de las definiciones utilizadas, de los criterios para la selección de los casos y de variables como la proporción de autopsias realizadas, el tipo de datos que se manejan o la atención de los servicios de emergencia [4], [5]. A pesar de ello, la MSC se reconoce como un importante problema de salud, estimándose que representa del 15 al 20% de muertes en los países occidentales, siendo la primera manifestación de una enfermedad cardiovascular desconocida hasta el momento en hasta el 25% de los casos [6], [7]. Según los estudios publicados, la MSC tiene una incidencia anual que varía desde aproximadamente 40 por 100 000 individuos en Asia hasta 100 por 100 000 en Estados Unidos [8]. Durante los últimos 20-30 años, la incidencia de la MSC en Estados Unidos se calcula que alcanza de 230 000 a 350 000 muertes por año, variando de 170 000 a 450 000 dependiendo de la fuente y metodología utilizadas [2]. En España no existe un registro exacto de las muertes súbitas que se producen, por lo que los datos que se manejan son extrapolaciones de estudios y registros más pequeños, calculándose alrededor de 30 000 casos nuevos cada año en nuestro país [9]. Atendiendo a la edad, la prevalencia de muerte súbita aumenta drásticamente para ambos sexos en personas de más de 40 años, principalmente debido a la mayor prevalencia de cardiopatía isquémica. En el caso de SIDS, la prevalencia varía mucho dependiendo del país, pero se estima que va desde 3,8 niños por cada 1000 nacidos vivos en Europa, 6,4 por 1000 en Estados Unidos, hasta 8,3 por 1000 en Uruguay [10]. En personas de <35 años, la incidencia es muy variable estimándose de 0,7 a 6,2 por 100 000 por año, pero va en aumento, calculándose que en individuos de <35 años la incidencia es de 0,01 por 1000 por año, aumentando a 1 por 1000 por año en individuos de 35 a 40 años, a 2 por 1000/año en personas de aproximadamente 60 años hasta alcanzar 200 por 1000 por año en personas mayores de esa edad [1], [11]–[13].

Un avance significativo para el establecimiento de protocolos estandarizados para el estudio de muerte súbita cardíaca se ha reflejado en la 11ª revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-11) para el cálculo de estadísticas de mortalidad y morbilidad, anunciada por la OMS en 2018 [14]. El fin de esta clasificación internacional es la estandarización mundial de la información de diagnóstico en el ámbito de la salud que permita el estudio de los patrones de enfermedad. Desde 1999 se utiliza la revisión 10ª de esta clasificación, sin embargo, en esta nueva versión CIE-11, la OMS reconoce, por primera vez, como causas de muerte súbita: SADS, miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (MAVD) y síndrome QT corto (SQTC). Además, la información a detallar es más precisa y completa, incluyendo, por ejemplo, el carácter familiar de algunas miocardiopatías y el origen

genético del síndrome de QT Largo (SQTL), SQTC, síndrome de Brugada (SBr), entre otros. Se espera conseguir un registro más preciso y normalizado de las causas más comunes de MSC. Esto facilitaría el cálculo de la prevalencia y el establecimiento de nuevas estrategias para su prevención. No obstante, el sistema CIE-11 no entrará en vigor hasta enero de 2022.

## 1.2. Etiología y factores de riesgo.

La muerte súbita cardíaca se debe, en la mayoría de los casos, a una arritmia ventricular fatal que lleva a la muerte en pocos minutos. Se cree que ocurre como resultado de una interacción entre un sustrato subyacente y un evento transitorio [15].

La causa más frecuente de muerte súbita cardíaca es la cardiopatía isquémica. Según datos publicados en 2018 por la OMS, la cardiopatía isquémica y el accidente cerebrovascular son las principales causas de mortalidad en el mundo durante los últimos 15 años, sumando 15,2 millones de muertes en 2016 [16]. A nivel nacional, el INE (Instituto Nacional de Estadística) publicó en diciembre de 2019 los datos de defunciones según la causa de muerte en 2018, según los cuales las enfermedades isquémicas del corazón fueron la primera causa de muerte en España [17]. En individuos de más de 40 años las causas más comunes son las enfermedades degenerativas crónicas como la insuficiencia cardíaca, la cardiopatía isquémica y las cardiopatías valvulares [2].

En individuos menores de 40 años, en cambio, las causas principales de MSC son las cardiopatías familiares de origen genético. En esta franja de edad, se identifica la causa de la muerte en aproximadamente el 70% de las MSC, mientras que el 30% restante se consideran SADS. De entre las causas identificadas, en torno a un 40% corresponderían a miocardiopatías estructurales (miocardiopatía hipertrófica (MCH; 10-15%), arritmogénica (MCA; 1-10%), dilatada (MCD), un 25% a patologías coronarias, un 5-10% se deberían a miocarditis y minoritariamente otras causas como las patologías de la aorta. En los casos considerados SADS, los síndromes arritmogénicos son la causa principal, el SQTL (responsable de aproximadamente un 15-20% de las muertes), la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (TVPC; de un 10-15%), el SBr o el SQTC [18]–[21]. También son causas frecuentes el abuso de sustancias y la patología coronaria [22]. En deportistas jóvenes, la MCH es la causa más frecuente de MSC en Estados Unidos y la segunda más frecuente en España [23],[24]. En muchos casos, la identificación de la causa de MSC es un gran hándicap. La comorbilidad, las canalopatías sin huella estructural o las arritmias adquiridas, son circunstancias que dificultan la determinación de la causa de muerte, incluso tras la autopsia forense [2]. Por ello, se recomienda no descartar la coexistencia de cardiopatías familiares cuando se sospecha de asma, epilepsia o cardiopatía isquémica como causa de muerte súbita. Por ejemplo, algunos estudios han revelado que la muerte súbita en epilepsia (SUDEP) podría tener un sustrato arritmogénico y un componente genético común con el SQTL [25], [26].

Las circunstancias en las que ocurre la MSC son muy variadas y, en algunos casos, características de la causa de muerte subyacente. A modo de ejemplo, la muerte súbita que ocurre durante el sueño es frecuente en el SBr; el estrés físico o emocional puede desencadenar arritmias letales en pacientes con TVPC; o las emociones, la fiebre o sonidos repentinos como la alarma de un despertador son desencadenantes frecuentes de MSC en pacientes con SQTL. Las circunstancias varían también según la edad, por ejemplo, en niños de uno a cinco años es frecuente la muerte súbita durante el sueño; en niños menores de un año, aunque también es habitual que la muerte ocurra durante el sueño, aproximadamente un 50% de las muertes resultan inexplicables después de una autopsia exhaustiva (SIDS) [27].

El riesgo de MSC puede verse alterado por diferentes factores clínicos y genéticos, como drogas de abuso, medicamentos, actividad física, determinados hábitos de vida, presencia de patologías cardíacas congénitas, psiquiátricas, etc [28]–[30]. Concretamente, algunos estudios indican que los pacientes psiquiátricos tienen mayor riesgo de sufrir MSC debido, en parte, a la cardiotoxicidad producida por los medicamentos psicotrópicos. Este riesgo de MSC se considera multifactorial y acumulativo y, generalmente, ocurre por arritmias ventriculares en presencia factores de riesgo inherentes al tratamiento, como las interacciones farmacológicas y al paciente, como la edad, alteraciones electrolíticas, patologías hepáticas, variantes genéticas o cardiopatías congénitas (cardiopatía isquémica, miocardiopatías, canalopatías) [31]–[34].

## 2. FISIOLÓGÍA DEL CORAZÓN

### 2.1. Estructura del corazón

El músculo cardíaco es un tejido muscular de tipo estriado formado por varios tipos celulares que, en conjunto, aportan al corazón las propiedades mecánicas, eléctricas, bioquímicas y estructurales. Estas células son miocardiocitos (principales responsables de la contracción, conducción y excitación cardíacas), fibroblastos y células endoteliales. Los miocardiocitos se pueden agrupar en: auriculares y ventriculares, responsables de la capacidad contráctil del corazón, y fibras especializadas de excitación y de conducción (células del haz de His, fibras de Purkinje y células nodales), encargadas de propagar el impulso eléctrico a través del corazón.

#### 2.1.1 Estructura sarcomérica

Los miocardiocitos son fibras musculares cardíacas cuyo interior está compuesto por miofibrillas dispuestas unas al lado de las otras formando un cilindro. Rodeándolas se encuentra el retículo sarcoplásmico (RS), responsable del almacenamiento, la liberación y la recaptación de calcio necesario para la contracción muscular. Las miofibrillas están formadas por una sucesión de sarcómeros, unidad contráctil de las fibras musculares. Cada sarcómero está formado por miles de miofilamentos de actina (o filamentos finos) y de miosina (o filamentos gruesos) que deslizan con cada contracción cardíaca. La organización de estos filamentos en el sarcómero hace que se formen varias bandas visibles al microscopio, como puede verse en la Ilustración 1A [35].

Los filamentos finos están compuestos por las cadenas de  $\alpha$ -actina (ACTC1), enroscadas entre sí, y por el aparato regulador troponina-tropomiosina sensible a calcio (Ilustración 1) [36]. Este complejo troponina-tropomiosina está formado por  $\alpha$ -tropomiosina (TM; codificada por el gen *TPMI*), troponina T (TnT; *TNNT2*), proteína que ancla el complejo a TM, troponina I (TnI; *TNNI3*) y troponina C (TnC; *TNNC1*). Cada una tiene una función diferente: TM se dispone entre las cadenas de actina regulando los sitios de unión a miosina, TnI inhibe la interacción actina-miosina, TnT desplaza la tropomiosina para liberar los sitios de unión actina-miosina cuando recibe la señal de TnC; TnC es capaz de unirse a los iones de calcio. A concentraciones bajas de  $\text{Ca}^{+2}$ , los sitios de unión a miosina están inhibidos por TM y el sarcómero se encuentra en estado de relajación [36].

Los filamentos gruesos cumplen funciones motoras y reguladoras. Están formados principalmente por la cadena pesada  $\beta$ -miosina (MYH7), denominada “motor de la miosina”, cuyos puentes cruzados se flexionan y extienden durante la contracción [37].



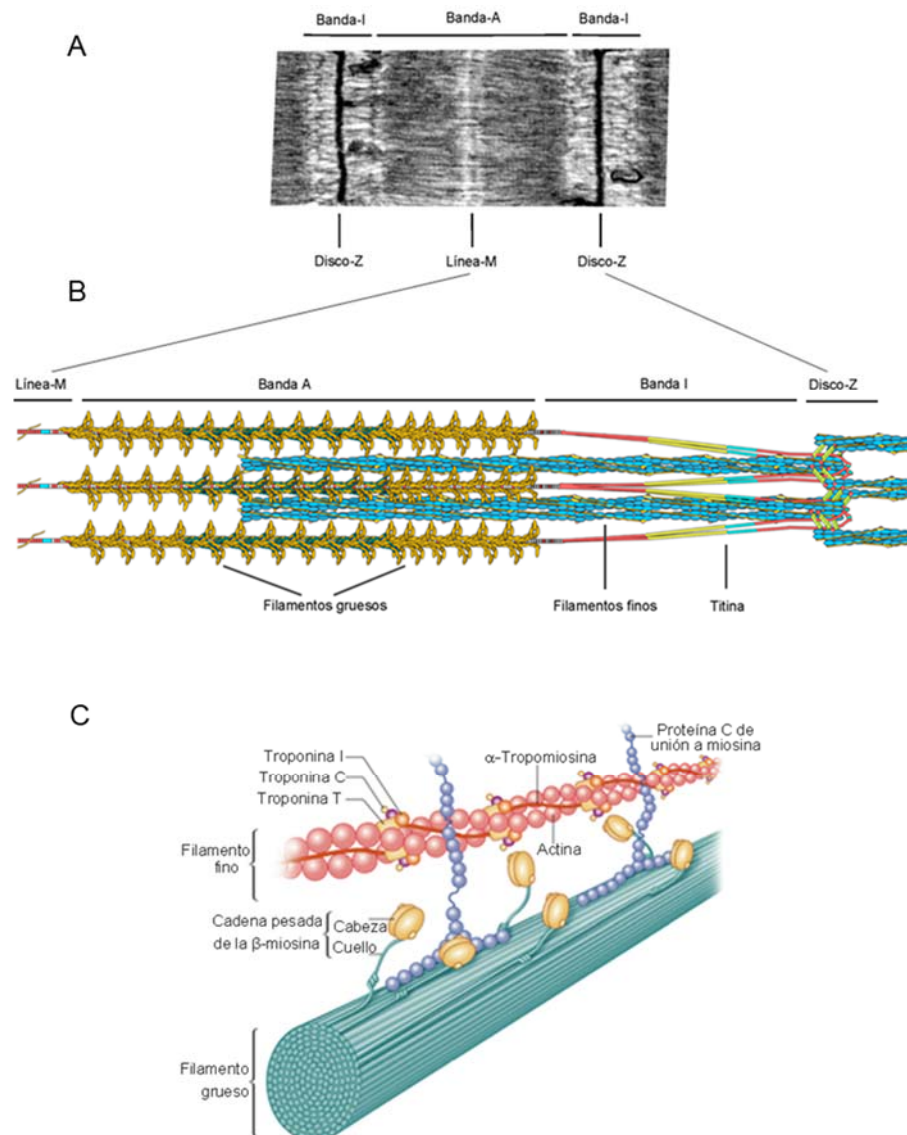


Ilustración 1. Estructura básica de la sarcómera. A) Filamentos sarcoméricos vistos mediante microscopía electrónica. En la imagen pueden distinguirse las bandas I, A, el disco Z y la línea M. B) Representación esquemática de las bandas y los filamentos sarcoméricos. El sarcómero está limitado por los discos Z, estructuras de anclaje de los filamentos finos (actina) y la titina, proteína donde se anclan los filamentos gruesos (miosina) al disco Z; la banda I, que abarca desde el disco Z hasta la banda A, contiene filamentos finos y titina; la banda A contiene filamentos finos y gruesos, en ella se distingue la banda o línea M, donde interconectan las proteínas sarcoméricas y se unen los filamentos gruesos anclados a cada disco Z. C) Estructura molecular del sarcómero. La cadena pesada de miosina se divide en una cola larga dimérica con una parte formando el eje cilíndrico central (meromiosina ligera, LMM) y otra parte apuntando hacia fuera, y una cabeza globular que se une a la actina e hidroliza el ATP. Ambas partes están unidas por el cuello o puente cruzado. Cada filamento fino es un polímero de actina. La tropomiosina es una larga proteína dimérica en espiral que se distribuye a lo largo del filamento fino. El complejo troponina-tropomiosina está compuesto por: troponina T, troponina I y troponina C. Los dominios carboxi terminales de cMyBP-C están anclados a titina y LMM, mientras que los dominios amino terminales interactúan con la fuera del eje cilíndrico central y con la actina. Adaptada de Dilson E. Rassier, 2017 y Semsarian *et al.*, 2015 [38], [39].

Estos puentes cruzados están estabilizados por las cadenas ligeras esencial y reguladora (codificadas por *MYL2* y *MYL3*, respectivamente). MYH7 tiene una zona de unión con actividad ATP hidrolasa y sitios de unión a actina [40]. Se unen también a una proteína C de unión a miosina (cMyBP-C) codificada por *MYBPC3* y a la titina (TTN) (Ilustración 1C). La



proteína cMyBP-C se une a su vez a los filamentos de actina. Estas interacciones están reguladas por mecanismos de fosforilación: cMyBP-C fosforilada aumenta la sensibilidad del miofilamento al calcio, mientras que desfosforilada actúa como un freno en la contractibilidad del sarcómero. La titina es la proteína más grande presente en el ser humano. Dentro del sarcómero se extiende como un muelle desde el disco Z hasta la banda M (Ilustración 1B). Tiene cuatro dominios funcionales: el dominio amino terminal, embebido en el disco Z, participa en el ensamblaje, estabilización y mantenimiento de la miofibrilla; la banda I está compuesta por regiones polipeptídicas no estructuradas (N2B y PEVK) y dominios inmunoglobulina (Ig) en tándem, es elástica y actuaría como un muelle controlando el estiramiento durante los ciclos de contracción y relajación; la banda A no es elástica, se une a la miosina y a la cMyBP-C y se cree que puede contribuir a la detección y señalización biomecánicas; por último, la banda M contiene una quinasa que participaría en la señalización sensible a tensión [41][42].

La alteración de la estructura sarcomérica está implicada en los mecanismos fisiopatológicos de varias miocardiopatías, principalmente la MCH. En torno a esta estructura básica sarcomérica, se encuentran otras proteínas importantes para el correcto funcionamiento del sarcómero que también están implicadas en distintas miocardiopatías. Por ejemplo, la lamina A/C forma una malla de filamentos intermedios debajo de la membrana nuclear interna de distintos tipos de células y tienen un papel estructural [43]; SERCA (ATPasa transportadora de calcio del retículo sarcoplásmico) es una bomba que transporta el calcio del citosol al interior del retículo sarcoplásmico; *fosfolambán*, codificada por *PLN*, es una proteína transmembrana que participa en la homeostasis del calcio inhibiendo SERCA [44]; RBM20 es una proteína de unión a RNA encargada de regular el splicing de genes como *TTN*, *MYH7* y *TNNT2*; Filamina C (*FLNC*) es una proteína citoesquelética del filamento intermedio que entrelaza los filamentos de actina en una red tridimensional y los ancla a otras proteínas y canales iónicos, dando estabilidad al sarcómero y al disco Z [45].

### 2.1.2 Discos intercalares y *area composita*

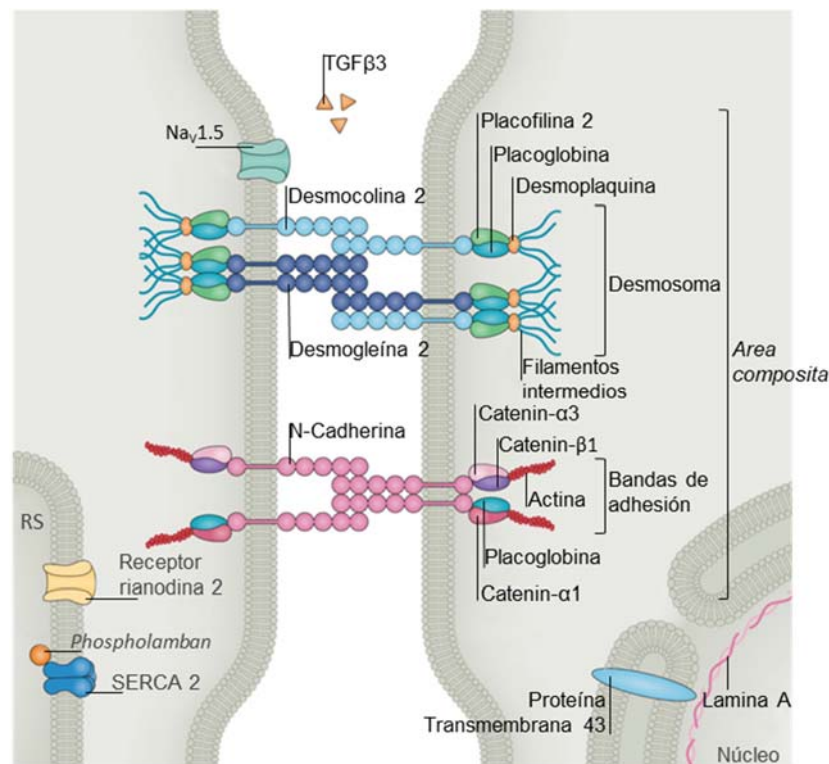
El tejido cardíaco tiene, además, unas estructuras de unión entre miocardiocitos adyacentes denominadas discos intercalares (DI) que le aportan resistencia y facilitan la conducción eléctrica; estas estructuras hacen que las células cardíacas se comporten como un “todo”. Los DI aseguran la resistencia del tejido cardíaco mediante el anclaje de las estructuras del citoesqueleto (filamentos intermedios, actina y microtúbulos) y la correcta propagación de la señal eléctrica que inicia la contracción cardíaca [46].

Constan de tres tipos de uniones principales (Ilustración 2) [46]:

- Bandas de adhesión: son el anclaje principal de las miofibrillas ya que, mediante los iones de calcio, conectan el citoesqueleto de actina de células adyacentes. Su componente principal es la proteína transmembrana N-Cadherina.
- Uniones “*gap*”: conectan metabólicamente y eléctricamente el citoplasma de células adyacentes. Estas uniones las forman conexinas, proteínas transmembrana que participan en la propagación del potencial de acción cardíaco (PA) y permiten el paso de iones y moléculas pequeñas desde el citoplasma de una célula a la célula adyacente. En los miocardiocitos la proteína más prevalente es la conexina 43.
- Desmosomas: se encargan del anclaje y la conexión con los filamentos intermedios.

Los desmosomas son uniones que se encuentran en todos los epitelios, principalmente epidérmico y cardíaco, lo que explica la afectación epitelial y cardíaca en síndromes como

Naxos y Carvajal, de origen desmosómico. En los desmosomas del tejido cardiaco se expresan cinco proteínas: dos cadherinas (desmocolina 2, DSC2, y desmogleína 2, DSG2), cuya función depende de los iones de calcio, dos proteínas armadillo (placofilina-2, PKP2, placoglobina, JUP), que intervienen en el ensamblaje del desmosoma y participan en la señalización celular, y desmoplaquina (DSP), que mantiene unidas las proteínas desmosomales con el filamento intermedio de desmina a través de sus extremos C-terminales. Esta interacción entre el complejo desmosomal y los filamentos intermedios es indispensable para la integridad del miocardio.



**Ilustración 2. Estructura molecular de los discos intercalares y el area compuesta.** En la imagen se muestran los componentes más relevantes en la fisiopatología de las cardiopatías familiares. Adaptada de Austin *et al.*, 2019 [47].

Otro componente importante de los DI son los canales iónicos, responsables del sustrato eléctrico en los miocardiocitos. El canal mayoritario en el tejido cardiaco es el canal de sodio activado por voltaje (Nav1.5), que se encuentra principalmente en los discos intercalares y, en menor cantidad, en la membrana basolateral de los miocardiocitos. Está formado por la subunidad  $\alpha$  formadora del poro y varias subunidades  $\beta$  que permiten el anclaje a la membrana y su correcto funcionamiento. Este canal se encarga de la entrada selectiva de iones  $\text{Na}^+$  al interior celular, participando en la generación del potencial de acción cardiaco. También interacciona con el resto de las proteínas de los DI que pueden modificar su función si se ven alteradas. Los canales iónicos interaccionan y actúan de manera sinérgica con las uniones gap y los desmosomas, integrando una unidad funcional denominada conexoma [48]. Además, las proteínas de las distintas uniones pueden interactuar entre ellas formando el *area compuesta*, un complejo proteico integrado por el desmosoma, las bandas de adhesión y los canales de sodio que actúa como una unidad funcional y ocupa más del 90% del espacio de los discos (Ilustración 2) [49].

La interacción entre las proteínas que forman los DI y, en definitiva, el *area composita* y el conexoma, muestra la compleja interdependencia entre sus componentes. El papel de las proteínas que componen estos complejos es relevante en el acoplamiento mecánico y eléctrico, así como en vías de señalización intracelular. Por ello, las mutaciones en los genes que codifican dichas proteínas causan un amplio abanico de patologías, como MCA, SBr, síndrome de Naxos o síndrome de Carvajal [46], [47].

### 2.1.3 Contracción cardíaca

La contracción cardíaca es el resultado de un conjunto de procesos que comienzan con la estimulación por un potencial de acción y culminan con el deslizamiento de los miofilamentos y la contracción. Este proceso se denomina acoplamiento de excitación-contracción. Cuando un potencial de acción estimula los miocardiocitos, la membrana se despolariza por el paso de iones de  $\text{Na}^+$  al interior celular. A continuación, los canales dependientes de voltaje  $\text{I}_{\text{Ca-Ltype}}$  se abren y permiten la entrada de iones de  $\text{Ca}^{+2}$  al interior de la célula (Ilustración 3A) [50]. Esta entrada de calcio induce la liberación de iones de  $\text{Ca}^{+2}$  desde el retículo sarcoplásmico al sarcoplasma a través de los receptores de la rianodina (RyR2). El aumento en la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  en el interior celular hace que los iones de  $\text{Ca}^{+2}$  libres se dispersen por las miofibrillas y se unan a TnC. El aumento de calcio intracelular produce también que las cabezas de la cadena pesada  $\beta$ -miosina hidrolicen ATP (Ilustración 3B). Cuando el calcio se une a la TnC ocurre un cambio conformacional en el complejo tropomiosina-troponina que deja libre el sitio de interacción de la actina con la miosina y permite ambas se unan mediante los puentes cruzados. Una vez unidas, los puentes cruzados de la miosina interactúan con la actina y empujan los filamentos finos mediante un “golpe de fuerza” utilizando la energía derivada de la hidrólisis del ATP. A continuación, se libera la molécula de ADP y, en su lugar, se une una nueva molécula de ATP. Esto hace que, con cada contracción, los filamentos de actina deslicen entre los de miosina. (Ilustración 3B).

Para que ocurra la relajación, la concentración de los iones de  $\text{Ca}^{+2}$  en el interior celular debe disminuir. Para ello, los iones de  $\text{Ca}^{+2}$  son capturados mayoritariamente por la  $\text{Ca}^{+2}$ -ATPasa del RS (SERCA2), regulada por fosfolambán, en menor proporción por el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$  (NCX) y, un porcentaje muy pequeño, mediante la  $\text{Ca}^{+2}$ -ATPasa sarcoplásmica y la mitocondria (Ilustración 3A). Los sistemas reguladores de calcio actúan dependiendo de la longitud del sarcómero, de forma que los sarcómeros alargados tienen mayor sensibilidad al calcio. Diversos estudios muestran que, durante la relajación del sarcómero, las cabezas de miosina pueden interactuar mediante motivos de interacción de cabeza (IHM, de sus siglas en inglés: *interacting-heads motif*) con los filamentos gruesos, inhibir la actividad ATPasa y limitar las interacciones de actina y miosina. Estas interacciones mediadas por IHM están reforzadas por interacciones de la miosina con las cadenas ligeras regulatorias y esenciales que sirven de andamiaje [36]. Durante el ciclo cardíaco se han descrito tres niveles de consumo de energía en el sarcómero dependiendo las interacciones que se den:

- Contracción: con interacciones activas de actina y miosina que aportan fuerza y tasas más altas de hidrólisis de ATP;
- Relajación desordenada: con interacciones limitadas de actina y miosina y tasas intermedias de hidrólisis de ATP;
- Superrelajación: sin interacciones entre actina y miosina y bajas tasas de hidrólisis de ATP.

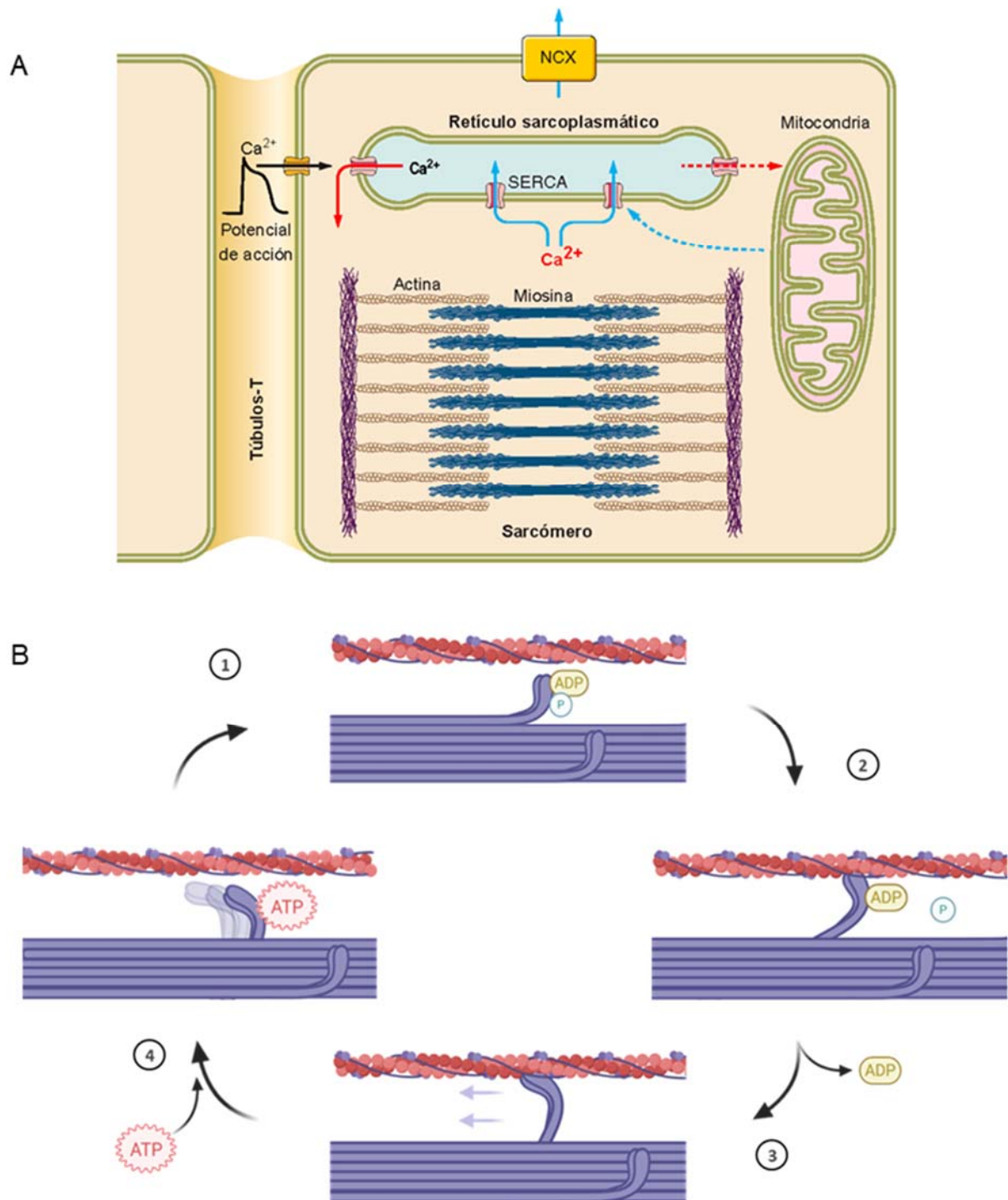


Ilustración 3. Acoplamiento excitación-contracción en el miocardiocito. A) Homeostasis del calcio en la contracción. Las flechas rojas indican la dirección de los iones de  $\text{Ca}^{2+}$  que dan lugar a la contracción; las flechas azules indican la dirección de los iones de  $\text{Ca}^{2+}$  que dan lugar a la relajación. Adaptado de van der Velden *et al.*, 2018 [51]. B) Interacción de los miofilamentos en la contracción cardíaca. 1) Las cabezas de miosina hidrolizan ATP para generar energía y cambiar de conformación, dejando los productos de la hidrólisis (ADP e ion fosfato (P)) unidos a las cabezas. 2) El sitio de unión actina-miosina se libera; las cabezas de miosina se unen a la actina mediante los puentes cruzados y se produce la liberación de P. 3) Con la liberación del ADP que estaba unido a la cabeza de la miosina, ocurre un “golpe de fuerza”, los puentes cruzados rotan, desplazan la actina y se da un acortamiento del sarcómero. 4) Una nueva molécula de ATP se une a la cabeza de la miosina y los puentes cruzados se separan de la actina.

## 2.2 Actividad eléctrica del corazón

### 2.2.1 Canales iónicos

La membrana citoplasmática de las células es una bicapa lipídica hidrofóbica que funciona como una barrera separando el medio extracelular y el intracelular con diferente composición. Los iones son moléculas hidrofílicas, inmiscibles en la membrana, que necesitan mecanismos de transporte especializados para atravesarla. Estos mecanismos de transporte pueden ser canales iónicos, proteínas transportadoras (*carriers*) o bombas iónicas, siendo los canales iónicos el sistema de transporte más eficiente [52].

Los canales iónicos cardíacos son proteínas transmembrana compuestas por el ensamblaje de una subunidad  $\alpha$  formadora del poro y una o varias subunidades auxiliares, cuya unidad funcional y estructural se ha descrito como “canalosoma”. El canalosoma de los canales iónicos cardíacos es un complejo de proteínas que permite la organización espaciotemporal de la respuesta celular, regulando su localización en el sarcolema, su anclaje al citoesqueleto y/o a otras proteínas, su actividad y función. Las funciones principales de los canales iónicos son: a) formar poros hidrofílicos que permiten el paso selectivo de los iones a favor de gradiente electroquímico (a favor de potencial eléctrico y gradiente de concentración); b) seleccionar los iones según su tamaño y carga; y c) regular la permeabilidad del canal adoptando uno de los tres estados conformacionales o estados: conductor (abierto o activo), no-conductor cerrado (o reposo) y no conductor inactivo [53].

Los canales iónicos pueden responder a multitud de estímulos diferentes. Según el estímulo que los active, pueden diferenciarse distintos tipos de canales[54], [55]:

- Canales dependientes de voltaje: cambian su conformación respondiendo a cambios en el potencial de membrana;
- Canales activados por ligandos o receptores: cambian de estado por la unión de determinadas hormonas, fármacos o neurotransmisores;
- Canales que se activan por mediadores intracelulares como el  $\text{Ca}^{+2}$ , ATP, etc.;
- Canales activados por factores físicos, como temperatura, presión, pH, deformación de la membrana o cambio del volumen de la célula;
- Canales goteo o “*leak channels*”: canales que se abren y se cierran espontáneamente.

Sin embargo, esta división de los canales iónicos se considera, frecuentemente, artificial ya que la despolarización de la membrana es capaz de liberar ligandos endógenos y activar los canales activados por receptores o mediadores intracelulares, mientras que, a su vez, muchos ligandos endógenos son capaces de modificar el potencial de membrana y activar canales voltaje-dependientes [56].

El paso masivo de iones que atraviesan los canales iónicos generará una corriente iónica que puede medirse como corriente eléctrica, capaz de producir cambios en el potencial de membrana. Estos cambios son determinantes para la generación del PA y por ello se dice que los canales iónicos son responsables de la transmisión del impulso eléctrico y mecánico a través de los miocardiocitos [57]. La Tabla 1 recoge las principales corrientes iónicas, canales, subunidades y genes que se expresan en el corazón.



Tabla 1. Principales corrientes iónicas, canales, subunidades y genes que se expresan en el corazón.

Corriente	Subunidad $\alpha$	Gen	Subunidad $\beta$   Proteína accesoria	Gen
$I_{Na}$	$Na_v1.3$	<i>SCN3A</i>	$Na_v\beta1$	<i>SCN1B</i>
	$Na_v1.5$	<i>SCN5A</i>	$Na_v\beta3$	<i>SCN3B</i>
	$Na_v1.7$	<i>SCN9A</i>	$Na_v\beta4$	<i>SCN4B</i>
$I_{to,fast}$	$K_v4.3$	<i>KCND3</i>	MiRP1	<i>KCNE2</i>
			MiRP2	<i>KCNE3</i>
			KChIP2	<i>KCNIP2</i>
			KChP	<i>PIAS3</i>
			DPP6	<i>DPP6</i>
$I_{to,slow}$	$K_v1.4$	<i>KCNA4</i>	$K_v\beta1$	<i>KCNB1</i>
			$K_v\beta2$	<i>KCNB2</i>
			$K_v\beta3$	<i>KCNB3</i>
			$K_v\beta4$	<i>KCNB4</i>
$I_{Ca,L}$	$Ca_v1.2$	<i>CACNA1C</i>	$Ca_v\beta2$	<i>CACNB2</i>
	$Ca_v1.3$	<i>CACNA1D</i>	$Ca_v\alpha2\delta1$	<i>CACNA2D1</i>
$I_{Ca,T}$	$Ca_v3.1$	<i>CACNA1G</i>	$Ca_v\alpha2\delta2$	<i>CACNA2D2</i>
	$Ca_v3.2$	<i>CACNA1H</i>		
$I_{Kr}$	$K_v11.1$	<i>KCNH2</i>	MiRP1	<i>KCNE2</i>
$I_{Ks}$	$K_v7.1$	<i>KCNQ1</i>	minK	<i>KCNE1</i>
$I_{Kur}$	$K_v1.5$	<i>KCNA5</i>	$K_v\beta1$	<i>KCNAB1</i>
			$K_v\beta2$	<i>KCNAB2</i>
$I_{K1}$	Kir2.1	<i>KCNJ2</i>		
	Kir2.2	<i>KCNJ12</i>		
	Kir2.3	<i>KCNJ4</i>		
$I_{K,ACh}$	Kir3.1	<i>KCNJ3</i>		
	Kir3.4	<i>KCNJ5</i>		
$I_{Na/K}$	Bomba $Na^+-K^+$	<i>ATP1A</i>		
$I_{Na/Ca}$	Bomba $Na^+-Ca^{+2}$	<i>SLC8A1</i>		
$I_f$	HCN1	<i>HCN1</i>		
	HCN2	<i>HCN2</i>		
	HCN3	<i>HCN3</i>		
	HCN4	<i>HCN4</i>		

Adaptada de *Electrical Diseases of the Heart*, Ihor Gussak y Charles Antzelevitch, 2013 [58].

### 2.2.2 Electrofisiología de las células cardíacas y potencial de acción cardíaco

Las fibras musculares del tejido especializado de excitación y conducción se encargan propagar el impulso eléctrico a través del corazón, controlando el latido cardíaco. El latido cardíaco tiene lugar gracias a las propiedades de las células especializadas del sistema de conducción: excitabilidad, automatismo, refractariedad y conducción del impulso cardíaco.

La **excitabilidad** de las células cardíacas viene dada por su capacidad de emitir una respuesta eléctrica ante un estímulo externo (químico, mecánico, térmico o eléctrico). La diferencia entre la composición del medio extracelular e intracelular, separados por la membrana citoplasmática, da lugar a una diferencia de potencial, llamada potencial de membrana ( $E_m$ ) [59]. Dicho  $E_m$  está determinado por: 1) la concentración de iones a ambos lados, 2) la permeabilidad de la membrana a cada ion y 3) la polaridad de la carga eléctrica de cada ion. Cuando una célula cardíaca no se estimula (el  $E_m$  es constante) se dice que está en “potencial en reposo”. Este potencial en reposo oscila en torno a los  $-85\text{mV}$  a  $-90\text{mV}$  en las células musculares auriculares y ventriculares, y  $-45\text{mV}$  a  $-65\text{mV}$  en las células nodales (de los nódulos sinoauricular, NSA, y aurículoventricular, NAV). Cuando la célula cardíaca está en reposo está polarizada, de forma que, con la entrada de cargas positivas en el interior celular, el  $E_m$  se va haciendo menos negativo y se produce la despolarización; mientras que la salida de cargas positivas es responsable de la repolarización. Ante un estímulo que excita las células, el  $E_m$  se desplaza a valores menos negativos y cuando el potencial alcanza un potencial umbral, provoca un cambio reversible del  $E_m$ , denominado potencial de acción.

En el latido cardíaco, la respuesta de la célula a los cambios secuenciales en la permeabilidad de la membrana a los diferentes iones da lugar al PA, generando impulsos eléctricos que se propagan por el miocardio y se acompañan de respuesta contráctil. El PA presenta cinco fases (Ilustración 4) [60]. La **fase 0** o fase de despolarización rápida comienza con la apertura del canal de sodio  $\text{Nav}1.5$ . La activación de la corriente rápida de sodio ( $I_{\text{Na}}$ ) a través de los canales de sodio dependientes de voltaje provoca una entrada masiva de  $\text{Na}^+$  al interior celular desplazando el  $E_m$  hasta valores de  $+30$  o  $+40\text{mV}$  y produciendo la despolarización de la membrana. Aunque la apertura del canal es muy rápida, su inactivación es lenta y la entrada de sodio se mantiene hasta la fase 2, que veremos a continuación. Cuando el potencial alcanza  $-40\text{mV}$ , los canales de calcio dependientes de voltaje comienzan a abrirse, permitiendo la entrada de  $I_{\text{Ca}}$ . En paralelo, los canales de potasio que regulan las corrientes  $I_{\text{Ks}}$  e  $I_{\text{Kr}}$  rectificadoras tardías, comienzan a activarse de forma lenta. Después de la fase 0 comienza la repolarización, que se divide en tres fases [57]. La **fase 1** es una fase de repolarización rápida y breve debida a: 1) la inactivación casi total de los canales de  $\text{Na}^+$ , y 2) la activación rápida de la corriente transitoria de salida de potasio  $I_{\text{to}}$  y, en las células auriculares, la activación rápida de la corriente rectificadora tardía de lenta inactivación,  $I_{\text{Kur}}$ . A continuación, se alcanza un equilibrio entre las corrientes de entrada  $I_{\text{Na,L}}$  (remanente de los canales que no se han inactivado al final de la fase 0) e  $I_{\text{Ca,L}}$  (a través de canales tipo L) y las corrientes rectificadoras tardías de salida,  $I_{\text{Kur}}$ ,  $I_{\text{Kr}}$  e  $I_{\text{Ks}}$  (ultrarrápida, rápida y lenta, respectivamente). Es la **fase 2**, de meseta o *plateau*. Seguidamente, comienza la **fase 3**, en la que la inactivación de las corrientes de entrada hace que predominen las corrientes repolarizantes de  $\text{K}^+$  y la repolarización se acelera. Hacia el final de la fase 3, se activan otras corrientes, como: 1)  $I_{\text{K1}}$ , de rectificación interna, corrige el potencial de acción y asegura que se alcance el potencial de reposo, determina la fase final de la repolarización; 2)  $I_{\text{K,ACh}}$ , de rectificación interna, se activa en las células auriculares por acetilcolina (ACh) y acorta la duración del potencial de acción. Cuando se alcanza de nuevo el potencial de reposo ( $-85\text{mV}$ ), comienza la **fase 4** que se corresponde con la diástole. En los miocardiocitos auriculares y ventriculares, que no son automáticos, esta fase es isoelectrónica y

se mantendrá constante hasta el comienzo de un nuevo PA. La Ilustración 4 muestra las fases del PA y las principales corrientes que intervienen en cada fase.

Durante el PA o inmediatamente después, pueden existir oscilaciones de  $E_m$  denominadas posdespolarizaciones, que pueden iniciar un impulso eléctrico, también llamado actividad desencadenada [61].

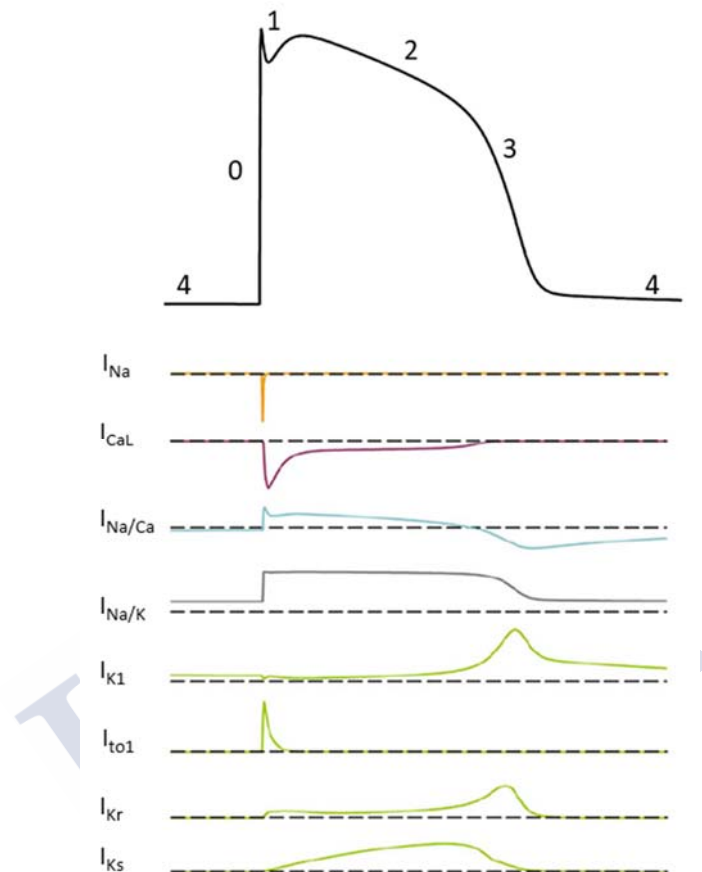


Ilustración 4. Fases del potencial de acción cardíaco y corrientes iónicas que participan. Adaptada de Baró *et al.*, 2013 [58].

Estas posdespolarizaciones pueden ser precoces o PPP (del inglés, EADs, *early afterdepolarizations*), cuando ocurren durante las fases 2 o 3 del PA, o tardías o PPT (del inglés, DADs, *delayed afterdepolarizations*), cuando se dan tras la fase de repolarización o fase 4. Las PPP pueden ocurrir por disminución de las corrientes de salida o aumento en las corrientes de entrada. Hay un gran abanico de circunstancias que pueden facilitar el desarrollo de PPP: acidosis, hipoxia, alteraciones electrolíticas (concentraciones extracelulares bajas de  $K^+$ ,  $Ca^{+2}$  o  $Mg^{+2}$ ), fármacos antiarrítmicos, antidepresivos, etc [62]. Las PPP tienen lugar cuando ocurre una prolongación del intervalo QT y parece que son la causa subyacente de las arritmias en el SQTL, tanto congénito como inducido por fármacos. Son el desencadenante de la taquicardia ventricular (TV) en *Torsades de Pointes* o TdP, una taquicardia ventricular polimórfica asociada con la prolongación del intervalo QT. Las PPT tienen lugar por alteraciones que producen acumulación de  $Ca^{+2}$  intracelular que, si alcanza el umbral de estimulación, puede iniciar un nuevo PA. La sobrecarga de  $Ca^{+2}$  intracelular debida a una función alterada del retículo sarcoplásmico por mutaciones en *RYR2*, es una causa de PPT pudiendo acabar en TVPC [63]; la hipopotasemia, la toxicidad por digoxina, la hipertrofia cardíaca y la insuficiencia



cardíaca también son factores que predisponen a PPT. Un PA prolongado facilita que ocurran las PPT ya que se asocia con mayor acumulación de  $\text{Ca}^{+2}$ , por tanto, fármacos que aumenten la duración del PA pueden facilitar que ocurran las PPT [62].

Además de los PA rápidos (o dependientes de sodio) que se han descrito para las células auriculares, ventriculares y del sistema His-Purkinje, las células nodales producen PA lentos, dependientes de  $\text{Ca}^{+2}$  [64]. El potencial de acción en las células nodales tiene tres fases. La **fase 0** comienza con la apertura de los canales de calcio tipo L y la entrada de  $\text{I}_{\text{Ca,L}}$ . A continuación, la **fase 3**, de repolarización, se debe a la activación de las corrientes de  $\text{K}^{+}$ , a la vez que van cerrándose los canales de  $\text{Ca}^{+2}$ . Finalmente, se alcanza la **fase 4** de lenta despolarización diastólica espontánea, en la que contribuyen distintas corrientes de entrada y salida (reducción de  $\text{I}_{\text{Kr}}$  e  $\text{I}_{\text{Ks}}$ , activación de la corriente de entrada  $\text{I}_{\text{f}}$ , activación de canales de  $\text{Ca}^{+2}$ , corrientes generadas por los intercambiadores  $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}$ , entre otras). Durante la diástole, estas células presentan una despolarización lenta a diferencia de las células auriculares, ventriculares y del sistema His-Purkinje, que presentan una fase isoeléctrica [64].

Otra propiedad de las células especializadas del sistema de conducción es el **automatismo**, característico de las células marcapasos del NSA. Estas células inician de forma espontánea y automática la despolarización diastólica, en la cual es esencial la corriente  $\text{I}_{\text{f}}$  (*funny*) y cuya alteración en la frecuencia de generación de los impulsos puede derivar en una arritmia [65]. El automatismo está regulado por el sistema nervioso autónomo de forma que, mediante la liberación de ACh, la actividad parasimpática reducirá la frecuencia sinusal, aumentando las corrientes de salida de  $\text{K}^{+}$  y disminuyendo  $\text{I}_{\text{Ca,L}}$  e  $\text{I}_{\text{f}}$ ; en cambio, mediante las catecolaminas, la actividad simpática aumentará dicha frecuencia, aumentando la entrada de  $\text{I}_{\text{Ca,L}}$  y favoreciendo  $\text{I}_{\text{f}}$ . El sistema nervioso autónomo puede ser modulado por alteraciones metabólicas (hipopotasemia, por ejemplo), sustancias exógenas (fármacos), o endógenas (liberación de catecolaminas durante la actividad física). En situaciones de potasio extracelular elevado, bajo pH intracelular o exceso de catecolaminas, el automatismo anormal también se ha descrito como mecanismo de arritmias en células ventriculares y auriculares no marcapasos. En estas situaciones, la interacción de varias corrientes produce una corriente despolarizante de entrada y la reducción de la conductancia del potasio [62]. Las células marcapaso del NSA presentan una regulación multifactorial, ya que se ha observado que la inhibición genética o farmacológica de las corrientes que participan en los procesos del potencial de acción no detiene la actividad marcapasos.

La **refractariedad** es otra de las propiedades que caracterizan a las células del sistema de conducción. Tras la despolarización, existe un periodo de tiempo en el que los miocardiocitos no son excitables, es el periodo refractario. En condiciones fisiológicas, cuando todas las células se han despolarizado, entran en fase refractaria y el impulso desaparece. Sin embargo, si hay un grupo de células que no se ha excitado durante el impulso inicial, puede excitarse antes de que dicho impulso desaparezca. A este mecanismo se le denomina mecanismo de reentrada y es el mecanismo que subyace a las arritmias ventriculares sostenidas que ocurren en las cardiopatías estructurales. La reentrada en fase 2 puede ocurrir debida a la heterogeneidad de la repolarización ventricular. Las corrientes se propagan por el ventrículo a través de tres tipos de células, epicárdicas, endocárdicas y células M, con distintos PA. Esta diferencia de duración del PA puede dar lugar a dispersión transmural de la repolarización y la refractariedad. Se cree que este es un mecanismo potencial de taquicardia y fibrilación ventriculares en el síndrome de Brugada [61].

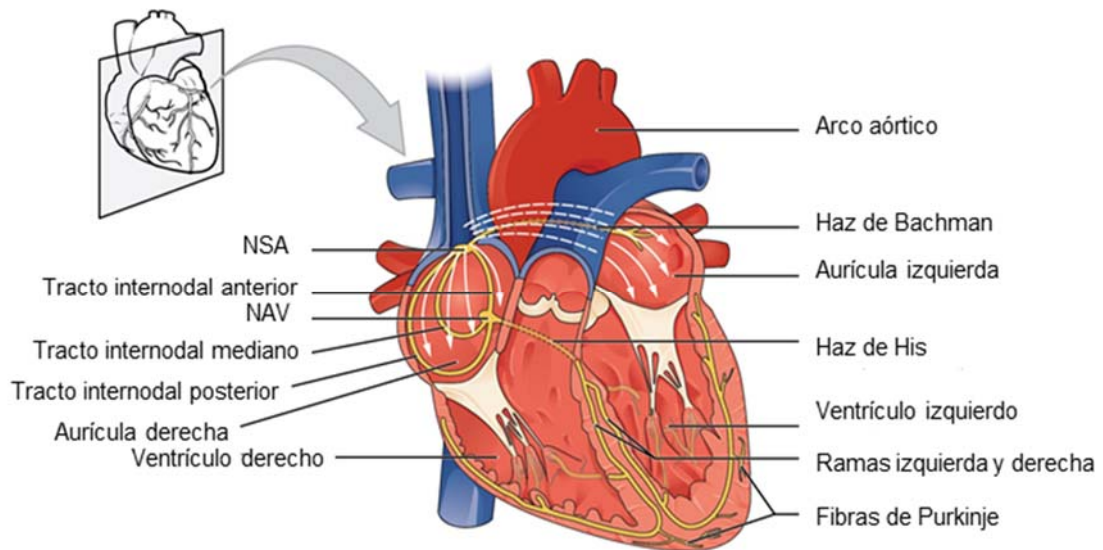


Ilustración 5. Sistema de conducción cardíaco. Adaptado de <https://openstax.org/details/books/anatomy-and-physiology>.

Finalmente, gracias a la capacidad de **conducción del impulso cardíaco** que tienen las células del tejido especializado, el corazón se contrae y bombea la sangre al resto de tejidos del organismo mediante los impulsos eléctricos que genera y propaga de manera organizada a todo el miocardio (Ilustración 5). Esta conducción del impulso cardíaco depende del acoplamiento entre las células y de las propiedades de resistencia y capacitancia de la membrana [35]. El impulso eléctrico en el corazón comienza con la despolarización en el NSA a través del PA. El NSA (localizado en la aurícula derecha) genera este potencial de acción de manera automática, actuando como marcapasos natural del corazón. El impulso se transmite rápidamente hacia las aurículas (sístole auricular) y el NAV de manera secuencial y ordenada entre los miocardiocitos inmediatamente vecinos, que van despolarizándose progresivamente por el gradiente de PA. El NAV es el punto de comunicación eléctrica entre aurículas y ventrículos; está constituido por un tejido especializado de conducción lenta, de forma que cuando el impulso alcanza el NAV, se ralentiza y da tiempo a que las aurículas se contraigan y la sangre fluya hacia los ventrículos. A través de él, el impulso eléctrico pasa a los ventrículos por el haz de His, formado por tejido especializado en la transmisión rápida del impulso. El haz de His se ramifica para acabar formando una red de fibras repartidas por los ventrículos, denominadas fibras de Purkinje. El sistema His-Purkinje propaga rápidamente la despolarización, primero por el septo medio izquierdo ventricular, después la despolarización ventricular apical, la despolarización ventricular basal y, finalmente, se alcanza la despolarización total. El sistema His-Purkinje extiende rápidamente el impulso y hace que ambos ventrículos se contraigan de manera sincrónica, haciendo que actúen como una bomba. Una vez el ventrículo se ha despolarizado completamente comienza la repolarización desde los ventrículos hacia las aurículas [35].

### 2.2.3 Electrocardiograma

El electrocardiograma (ECG) es una representación gráfica de la actividad eléctrica del corazón; refleja cada una de las fases de despolarización y repolarización cardíacas. En él la conducción del impulso eléctrico se puede ver reflejada en: ondas, (intensidades del impulso eléctrico), segmentos (líneas isoeletricas) e intervalos (ondas + segmentos) (Ilustración 6). De forma que

se registran: cinco ondas: P, Q, R, S y T, dos segmentos: PR y ST, y dos intervalos: PR y QT. Cada fase de despolarización y repolarización se refleja de la siguiente manera:

- Despolarización (activación) auricular: onda P
- Despolarización del NAV, haz de His: segmento PR
- Despolarización del septo ventricular apical: onda Q
- Despolarización ventricular apical: onda R
- Despolarización ventricular basal: onda S
- Despolarización total: segmento ST
- Repolarización ventricular: onda T

De esta forma, el complejo QRS reflejará la despolarización ventricular, mientras que el intervalo QT corresponderá al tiempo de repolarización ventricular [35].

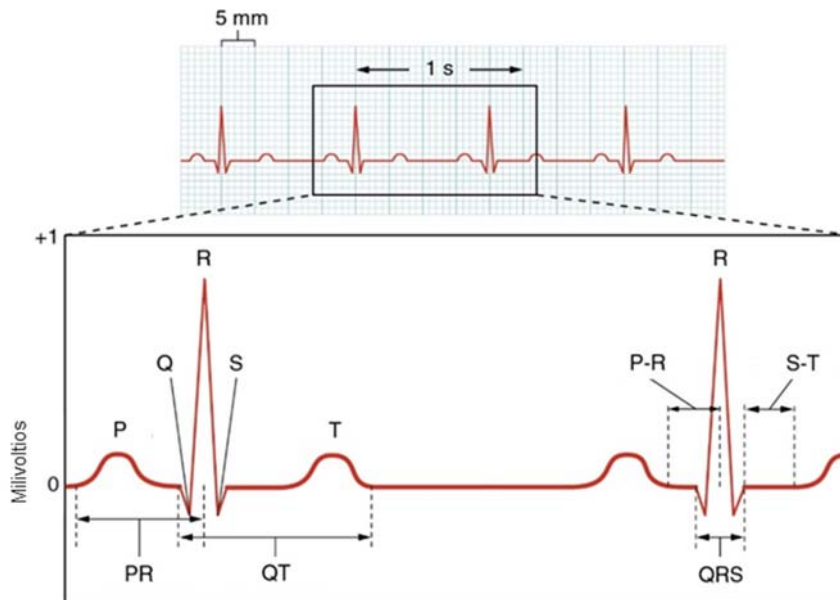


Ilustración 6. Electrocardiograma sin alteraciones. Adaptado de <https://openstax.org/details/books/anatomy-and-physiology>.

### 3. LAS CARDIOPATÍAS FAMILIARES Y SUS BASES GENÉTICAS Y MOLECULARES

Las cardiopatías familiares representan una de las causas más frecuentes de MSC e insuficiencia cardíaca, especialmente en pacientes jóvenes. Se trata de cardiopatías hereditarias, de presentación familiar y base genética que se asocian con mayor riesgo de muerte súbita cardíaca. El hecho de que sean hereditarias supone un riesgo para los familiares, que pueden sufrir el mismo desenlace. Estas patologías se caracterizan por tener heterogeneidad clínica y genética ya que varían en su presentación clínica, diagnóstico y pronóstico. Pueden tener una misma etiología y presentar un fenotipo variable (penetrancia incompleta y expresividad variable) o presentar un mismo fenotipo y tener etiologías diferentes (heterogeneidad de locus). Esta heterogeneidad clínica y genética que caracteriza las cardiopatías dificulta su clasificación. En la literatura existen distintos sistemas de clasificación de cardiopatías según su fisiología, su función y su mecanismo genético que han ido cambiando a lo largo del tiempo conforme ha ido avanzando el conocimiento sobre ellas.

Las miocardiopatías han sido asociadas durante mucho tiempo a un origen desconocido. Debido a eso, su clasificación ha sido todo un desafío que comenzó, a mediados del siglo XIX, cuando la enfermedad cardíaca no valvular se calificó como “miocarditis crónica” [66]. Desde entonces, conforme ha ido evolucionando el conocimiento, se han ido proponiendo distintas clasificaciones en función de su anatomía, su etiología o su mecanismo genético. Por primera vez se utilizó el término “miocardiopatía” en el año 1957 en referencia a una enfermedad miocárdica de origen no coronario que se clasificó, según su origen, en: congénita, infecciosa, por enfermedad del colágeno, amiloidosis o fibrosis endomiocárdica [67].

Más tarde, en 1961, Goodwin *et al.* propusieron la primera clasificación en tres tipos morfológico-funcionales que se siguen usando hoy en día: congestivas (actualmente dilatada), constrictivas (en la actualidad restrictiva) y obstructivas (hipertrófica) [68]. Con el objetivo de establecer unos criterios de sistematización nosológica de las miocardiopatías, en 1980 la OMS y la ISFC (*International Society and Federation of Cardiology*) propusieron la primera clasificación institucional de las miocardiopatías basándose en su fenotipo estructural (morfológico) y funcional, manteniendo la clasificación previa de Goodwin *et al.* En esta versión definían las miocardiopatías como “enfermedades del músculo cardíaco de causa desconocida” [69]. En la década de los 90, el descubrimiento de las primeras mutaciones asociadas con miocardiopatía hipertrófica y dilatada cambió la idea inicial de “causa desconocida” y, en 1996, la OMS y la ISFC publicaron una actualización. En ella definían las miocardiopatías como “enfermedades del miocardio asociadas con disfunción cardíaca” [70]–[72].

Sin embargo, dicho sistema de clasificación suscitó cierta controversia y el año 2006 la Asociación Americana del Corazón (AHA), por sus siglas en inglés (*American Heart Association*) propuso una clasificación diferente que incorpora los avances de la genética en el diagnóstico etiológico y las nuevas entidades descritas hasta ese momento, incluyendo las canalopatías en la clasificación [73]. Esta clasificación define la miocardiopatía como “un grupo heterogéneo de enfermedades del miocardio asociadas a disfunción eléctrica y/o mecánica que usualmente (pero no invariablemente) exhiben inapropiada dilatación o hipertrofia ventricular y son debidas a una diversidad de causas que frecuentemente son genéticas. Pueden estar limitadas al corazón o ser parte de desórdenes sistémicos generalizados y, a menudo, conducen a muerte cardiovascular o incapacidad progresiva relacionada con insuficiencia cardíaca”. Divide las miocardiopatías en “primarias”, que afectan única o mayoritariamente al músculo cardíaco (genéticas, adquiridas o mixtas) y “secundarias”, en las que la afectación del músculo cardíaco es parte de una enfermedad sistémica o multiorgánica (Tabla 2).

El año 2008, la Sociedad Europea de Cardiología (ESC, por sus siglas en inglés, *European Society of Cardiology*) planteó una clasificación diferente basada de nuevo en criterios morfológicos y funcionales específicos, definiendo la miocardiopatía como “trastorno en el cual el músculo cardíaco es estructural y funcionalmente anormal, en ausencia de enfermedad coronaria, hipertensión arterial, enfermedad valvular y enfermedad cardíaca congénita suficiente para causar la anormalidad miocárdica observada”, excluyendo, por definición, las canalopatías.

La ESC divide las miocardiopatías por fenotipo morfológico y funcional y las clasifica en: MCH, MCD, MAVD, MCR (miocardiopatía restrictiva) y no clasificada. En esta clasificación, cada una se divide según su etiología en familiar/genética y no familiar/no genética (Tabla 3) [74]. Junto con la clasificación de la AHA, son las clasificaciones que se utilizan hoy en día, aunque con algunas actualizaciones posteriores en guías específicas de cada enfermedad, quedando obsoleta la clasificación de la OMS [2], [75]–[78].

Tabla 2. Clasificación de las miocardiopatías según la Sociedad Americana de Cardiología

MIOCARDIOPATÍAS PRIMARIAS	Genéticas	MCH MAVD No compactación VI Defectos de conducción Miopatías mitocondriales	
		Depósito de glucógeno	<i>PRKAG2</i> Enf. de Danon
		Trastornos canales iónicos	SQTL SQTC SBr TVPC Sd. de muerte súbita durante el sueño
	Mixtas	MCD MCR (no hipertrófica ni dilatada)	
MIOCARDIOPATÍAS SECUNDARIAS	Adquiridas	Miocarditis inflamatoria Inducida por estrés (Tacko-Tsubo) Periparto Taquicardia ventricular o supraventricular Niños de madres insulín dependientes	
	Infiltrativas	Amiloidosis, Enf. de Gaucher, Enf. de Hurler, Enf. de Hunter	
	Depósito	Hemocromatosis, Enf. de Fabry, Almacenamiento de glucógeno (Pompe), Enf. de Niemann-Pick	
	Tóxicas	Drogas, metales pesados, químicos	
	Endomiocárdicas	Fibrosis endomiocárdica, Sd. hipereosinofílico (Löffler)	
	Granulomatosis inflamatoria	Sarcoidosis	
	Endocrinas	Diabetes mellitus, Hipertiroidismo, Hipotiroidismo, Hiperparatiroidismo, Feocromocitoma, Acromegalia	
	Cardiofaciales	Sde. Noonan, Lentiginosis	
	Neuromusculares y neurológicas	Ataxia de Friedreich, DM Duchenne-Becker, DM Emery-Dreifuss, Distrofia miotónica, Neurofibromatosis, Esclerosis tuberosa	
	Déficits nutricionales	Beriberi, pelagra, escorbuto, selenio, carnitina, kwashiorkor	
	Autoinmunes / colágeno	Lupus eritematoso sistémico, Dermatomiositis, Artritis reumatoide, Esclerodermia, Poliarteritis nodosa	
	Trastornos electrolíticos		
	Terapia anticáncer	Antraciclinas, Ciclofosfamida, Radiación	

DM: Distrofia muscular; Enf.: enfermedad; MAVD: miocardiopatía arritmogénica ventrículo derecho; MCD: miocardiopatía dilatada; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MCR: miocardiopatía restrictiva; SBr: Síndrome de Brugada; SQTC: Síndrome QT corto; SQTL: Síndrome QT largo; TVPC: taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica.



Tabla 3. Clasificación de las miocardiopatías según la Sociedad Europea de Cardiología

Miocardiopatías		
MCH	familiar / genética	defecto genético desconocido
MCD		subtipo miocardiopatía
MAVD	no familiar / no genética	idiopática
MCR		subtipo miocardiopatía
Sin clasificar		

Más recientemente, en 2014, se propone otro sistema de clasificación más preciso y dirigido al diagnóstico clínico denominado MOGE(S) [79]. En él, los autores describen las miocardiopatías como “desórdenes caracterizados por un miocardio morfológica y funcionalmente anormal en ausencia de cualquier otra enfermedad que sea suficiente por sí misma para causar el fenotipo observado”. Con este sistema se individualiza cada caso de miocardiopatía asignando un código de letras y subíndices que describen las características fisiopatológicas y genéticas de la enfermedad, en cada caso particular. MOGE(S) define cinco características principales: **M**, Morfofuncionales, **O**: compromiso de Órgano, **G**: herencia Genética o familiar, **E**: definición Etiológica y (S) (opcional): estadio (Stage) de insuficiencia cardíaca. Esta clasificación está poco extendida debido a su complejidad.

En los siguientes apartados, nos centraremos las bases genéticas y moleculares de las miocardiopatías de origen genético relacionadas con la MSC: MCH, MCD, MCA (miocardiopatía arritmogénica), MCR y MCNC (miocardiopatía no compactada); y en los trastornos arritmogénicos o canalopatías: SQTL, SQTC, SBr y TVPC.

### 3.1 Miocardiopatías estructurales

Dentro de las cardiopatías familiares, las miocardiopatías estructurales son enfermedades primarias del músculo cardíaco. Tienen base genética y son la causa principal de la MSC en individuos menores de 40 años. Se caracterizan por un marcado solapamiento clínico y genético que muchas veces dificulta su diagnóstico. Habitualmente son enfermedades que cumplen herencia mendeliana autosómica dominante, aunque también se han descrito formas recesivas, ligadas al X y de herencia mitocondrial. Recientemente, sin embargo, se baraja la posibilidad de que algunas de sus formas sean compatibles con herencia poligénica u oligogénica. La utilización de la secuenciación masiva ha permitido detectar la presencia de genotipos complejos, con dos o más alteraciones genéticas que modifican el fenotipo y que podrían explicar la penetrancia incompleta y expresividad variable inter e intrafamiliar. Saber interpretar dichas variantes y conocer su papel causal en la enfermedad es un nuevo reto que se presenta.

#### 3.1.1 Miocardiopatía hipertrófica

La MCH se define por la presencia de aumento del grosor de la pared del ventrículo izquierdo (VI) que no se puede explicar únicamente por condiciones de carga anómalas. Esta definición es aplicable a niños y adultos, y *a priori* no hace presunción de etiología o patología miocárdica. En relación con la localización, la hipertrofia suele ser asimétrica (distribuida de forma desigual a lo largo del septo), aunque también puede ser simétrica o apical. La MCH, además, puede ser obstructiva o no obstructiva, según haya o no una obstrucción del tracto de salida del VI. A

nivel celular, los miocardiocitos están hipertrofiados, desorganizados (*disarray*) y separados por zonas fibrosas intersticiales [73][74].

La manifestación de la hipertrofia depende de la edad, de forma que aproximadamente la mitad de los pacientes con mutación conocida la desarrollan en la década de los 30 años [80],[81]. Dada la expresión dependiente de la edad de las mutaciones, también la prevalencia está relacionada con la edad, estimándose en personas adultas una prevalencia de 1/500 que disminuye de manera significativa en menores de 25 años [82]. Semsarian *et al.* sugieren una prevalencia mayor pudiendo llegar a 1/200 combinando factores como mutaciones genéticas, historia familiar y técnicas de imagen de alta resolución [39]. En edades pediátricas, se desconoce la prevalencia, pero se calcula una incidencia de 0,3-0,5/100 000 según los estudios poblacionales publicados [83], [84]. Es común que los pacientes con MCH sean asintomáticos y se descubra su patología en revisiones rutinarias o por un *screening* familiar.

La MCH es una de las principales causas de MSC en individuos jóvenes y deportistas [82], [85]. Aunque no es frecuente, la MSC puede ser la primera manifestación clínica de la enfermedad, afectando al 0,5-1% de los pacientes, especialmente a menores de 25 años [82]. Actualmente la estratificación del riesgo de MSC en pacientes con MCH se realiza valorando los marcadores clínicos que requiere la calculadora de riesgo de la ESC [86].

Existe un número considerable de etiologías en la MCH, pero se calcula que en hasta un 60% de los casos la enfermedad es causada por mutaciones en genes sarcoméricos. Del resto, aproximadamente un 5-10% corresponden a otras causas genéticas o no genéticas (fenocopias), como: trastornos metabólicos (por ejemplo, enfermedad de Fabry, por mutaciones en el gen *GLA*, o enfermedades de almacenamiento de glucógeno, como enfermedad de Danon por mutaciones en el gen *LAMP2* o enfermedad de Pompe, causada por mutaciones en el gen *GAA*), enfermedades mitocondriales, enfermedades neuromusculares, síndromes malformativos (síndrome de Noonan o síndrome de Leopard, por ejemplo), enfermedades infiltrativas, trastornos endocrinos o fármacos; mientras que un 25-30% son de causa desconocida [77]. La similitud de estas fenocopias con la MCH puede dificultar su diagnóstico y se recomienda excluirlas de la atención de pacientes con cardiopatías familiares por tener un curso clínico y un tratamiento diferentes [87]. Los criterios diagnósticos estandarizados y las recomendaciones de procedimientos a seguir en la MCH vienen recogidos en Elliott *et al.*, 2014 [77].

Las bases moleculares de la MCH sarcomérica son complejas puesto que intervienen un gran número de mecanismos diferentes. En un 30-60% de los pacientes se identifican mutaciones patogénicas en genes sarcoméricos, de las cuales aproximadamente la mitad se detectan en los genes *MYH7* y *MYBPC3*, un 10% en los genes *TPM1*, *TNNT2* y *TNNI3* y una minoría *MYL2*, *MYL3*, *ACTC1*, *CSRP3*, *JPH2* y *TNNC1*, (Tabla 4) ([88]–[94]). Se han descrito mutaciones en muchos otros genes en casos esporádicos o familias pequeñas, sin embargo, en muchos casos aún está por confirmar su papel causal [95]. En el último consenso publicado por la AHA se recomienda el estudio de los genes con evidencia de causalidad definitiva o moderada (en el caso de genes no sindrómicos) asociados con MCH basándose en los resultados publicados por Ingles *et al.* en 2019 [96],[97]. En este estudio, los autores evaluaron la información publicada de estudios genéticos, clínicos y experimentales en torno a 57 genes previamente asociados a MCH, 24 de ellos asociados a síndromes que incluyen hipertrofia del VI; establecieron cinco categorías según la evidencia que apoyaba la asociación del gen con MCH: evidencia definitiva, fuerte, moderada, limitada o sin evidencia, concluyendo que solo ocho genes (*MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TPM1*, *ACTC1*, *MYL2* y *MYL3*) contaban con evidencia definitiva y tres genes con evidencia moderada (*CSRP3*, *TNNC1* y *JPH2*). De los

genes asociados con síndromes, 12 se clasificaron como definitivos asociados con hipertrofia del VI aislada.

Las mutaciones en genes sarcoméricos son, en su mayoría, compatibles con un patrón de herencia autosómico dominante; aunque se han observado formas recesivas o ligadas al X, son poco frecuentes [98]–[100]. También se ha descrito posible herencia digénica y oligogénica, así como la presencia de posibles variantes genéticas de efecto “moderado” [101]–[106]. Aproximadamente un 5-10% de pacientes con MCH, sobre todo casos esporádicos y familias pequeñas, presentan dos o más mutaciones en el mismo gen o genes diferentes asociando normalmente fenotipos más graves [77].

En la MCH es difícil establecer una correlación genotipo-fenotipo entre mutaciones en el mismo gen, incluso en la misma región, ya que pueden producir fenotipos con distinta edad de inicio, distinta gravedad o diferente pronóstico [107], [108]. Esto es debido, en parte, a interacciones complejas de: mutaciones de gran efecto, variantes genéticas de efecto pequeño o moderado, factores epigenéticos o factores ambientales. Las mutaciones de gran efecto son las responsables de la MCH autosómico dominante monogénica y suelen cosegregar con el fenotipo en la familia, son prerrequisito y el determinante mayoritario del fenotipo; las variantes de efecto moderado influyen en el fenotipo, pero presentan penetrancia incompleta, no cosegregan claramente con la enfermedad y sus defectos dependen de otros factores genéticos o ambientales; se cree que son las responsables de la penetrancia incompleta de la MCH. Finalmente, las variantes de efecto pequeño no causan MCH monogénica y se caracterizan por influir en el fenotipo aunque modestamente [109]. Establecer el papel causal de las variantes de efecto pequeño o moderado es tremendamente difícil, no solo por la falta de cosegregación y baja penetrancia, también por lo difícil que es discernir si son cambios de la propia diversidad genética individual o específicos de una familia o una población concreta [110].

Los distintos mecanismos por los que las mutaciones explicarían la patogénesis de la MCH sarcomérica no se conocen con exactitud. Estos mecanismos, además, podrían coexistir y complementarse [111].

Por un lado, estudios previos sugieren que las mutaciones nonsense (codón de terminación prematuro) en MYBPC3 causarían haploinsuficiencia produciendo proteínas truncadas que no llegan a incorporarse al sarcómero [112], [113]; las mutaciones missense en los genes sarcoméricos sí permiten la incorporación de la proteína mutada y reducen la expresión de la proteína de manera leve, pero la eficiencia de la incorporación de dichas proteínas mutadas en el sarcómero varía según la mutación y el miocardiocito [114]. Se cree que esta heterogeneidad podría explicar en parte la expresividad variable de MCH. Ambos mecanismos alterarían la función contráctil del sarcómero característica de la MCH [115], [116]. Como mecanismo fisiopatológico principal que afecta a la hipercontractilidad y disfunción diastólica de la MCH sarcomérica, se propone la alteración de la relajación del sarcómero. En este sentido, se ha demostrado que mutaciones en MYBPC3, MYH7, MYL2 y MYL3 podrían alterar IHM implicado en las interacciones entre proteínas sarcoméricas durante la relajación. Dichas mutaciones disminuirían la proporción de miosinas en estado de superrelajación y aumentarían las miosinas en relajación desordenada, aumentando las interacciones de actina-miosina. Se ha propuesto también que mutaciones missense (cambio de un aminoácido por otro) en MYBPC3 disminuyen la fuerza contráctil de los miocardiocitos e inducen a una mayor sensibilidad al calcio [36], [117], [118].



Tabla 4. Genes principales y sus proteínas asociados a miocardiopatía hipertrófica.

		Gen	Proteína
Genes de la sarcómera	Filamento grueso	<i>MYBPC3</i>	Proteína C de unión a miosina
		<i>MYH7</i>	Cadena pesada de miosina $\beta$
		<i>MYL2</i>	Cadena ligera de miosina reguladora
		<i>MYL3</i>	Cadena ligera de miosina esencial
	Filamento fino	<i>ACTC1</i>	Actina $\alpha$ cardiaca
		<i>TNNC1</i>	Troponina C cardiaca
		<i>TNNI3</i>	Troponina I cardiaca
		<i>TNNT2</i>	Troponina T cardiaca
		<i>TPM1</i>	Tropomiosina $\alpha$
	Disco Z	<i>ACTN2</i>	Actinina $\alpha 2$
		<i>CSRP3</i>	Proteína LIM muscular
		<i>FLNC</i>	Filamina C
Genes no sarcoméricos	Transporte $\text{Ca}^{+2}$	<i>JPH2</i>	Junctofilina 2
		<i>PLN</i>	Fosfolambán
	Otros genes	<i>CACNA1C</i>	Cav1.2
		<i>DES</i>	Desmina
		<i>FHL1</i>	Four-and-a-half LIM domains 1
		<i>GLA</i>	$\alpha$ -galactosidasa A
		<i>LAMP2</i>	Proteína 2 de membrana asociada a lisosomas
		<i>PRKAG2</i>	Proteína quinasa dependiente de AMP (AMPK)
		<i>PTPN11</i>	Proteína tirosina fosfatasa no receptor tipo 11
		<i>RAF1</i>	RAF serín/treonín quinasa
		<i>RIT1</i>	RIT1
		<i>TTR</i>	Transtiretina
		<i>ALPK3</i>	$\alpha$ -quinasa 3

En la tabla se han incluido los principales genes síndrómicos y no síndrómicos asociados con MCH aislada.

Por otro lado, mutaciones en genes del complejo sensible a calcio troponina-tropomiosina (*TPM1*, *TNNI3*, *TNNT2*, y *TNNC1*) muestran hipersensibilidad al calcio, es decir, a concentraciones de calcio típicas de la relajación, los miofilamentos seguirían produciendo contracción; mutaciones en otros genes sarcoméricos también podrían compartir este mecanismo [112]–[117]. Sin embargo, el hecho de que mutaciones en genes que codifican

proteínas reguladoras del calcio produzcan fenotipo arritmogénico con poca o ninguna hipertrofia cuestiona la hipersensibilidad al calcio como mecanismo fisiopatológico inicial.

Cabe destacar el efecto pleiotrópico de las mutaciones en los genes sarcoméricos. Es decir, mutaciones en estos genes se asocian con distintos fenotipos que, a menudo, solapan, como MCH, MCD, MCR o MCNC [118]–[120]. Esta pleiotropía puede deberse a la localización de las mutaciones en diferentes dominios de la proteína de forma que, dependiendo dónde se localice la mutación, el efecto podrá alterar distintas funciones y tendrá distintas consecuencias. Por ejemplo: alteración la interacción con otras proteínas, cambios en la actividad ATPasa y la sensibilidad al calcio, conformación de la proteína durante la contracción, etc [121]–[123].

El rendimiento diagnóstico del estudio de genes sarcoméricos depende del tipo de MCH, se ha visto que en las formas clásicas con patrón típico de hipertrofia septal asimétrica el rendimiento puede ser de hasta un 70%, mientras que en formas atípicas (morfología sigmoide o hipertrofia apical o con patrón neutro) se detectan mutaciones sarcoméricas en un 10-50% de los pacientes [77], [124], [125].

### 3.1.2 Miocardiopatía restrictiva

La MCR se caracteriza por un aumento de rigidez ventricular, volúmenes ventriculares normales o casi normales, a veces reducidos, y grosor de pared ventricular normal o ligeramente aumentado. Aunque existe función sistólica normal, la rigidez de los ventrículos impide el llenado ventricular y altera la función diastólica. Es también característica la dilatación de las aurículas. Puede afectar a uno de los ventrículos o a ambos causando insuficiencia cardiaca [73], [74].

La MCR es la miocardiopatía menos común y de prevalencia desconocida por la gran variedad de causas y manifestaciones clínicas que dificultan su diagnóstico. Se trata de una miocardiopatía de origen genético o adquirido cuya causa puede ser una enfermedad o una combinación de ellas. Además, dicha prevalencia varía geográficamente según la causa subyacente. Por ejemplo, la fibrosis endomiocárdica, una de las formas más comunes de MCR, es endémica en zonas tropicales, sobre todo en África [126]. En individuos de menos de 30 años, la forma más común de MCR es de origen genético con aumento de fibrosis, depósito de hierro, proteínas o glucógeno, mientras que en personas de más de 65 años, las causas más comunes son la amiloidosis cardiaca, el exceso de hierro y la forma inducida por radiación [127]. En niños, en la mayoría de casos la MCR es idiopática [128]. Aunque la manifestación inicial más común es la insuficiencia cardíaca, aparecerán diferentes signos clínicos característicos dependiendo de la etiología. Las alteraciones de la conducción y las arritmias son frecuentes, pudiendo acabar en MSC. La MCR tiene hallazgos morfológicos distintivos basados en técnicas de imagen y hemodinámica con patrón característico de *dip-plateau* que indica el aumento de rigidez de las paredes del ventrículo, pero no se han establecido unos criterios de diagnóstico estandarizados [129]. Esto se debe, sobre todo, a que muchas patologías, como la MCH y la MCD, solapan clínica e histológicamente con el patrón restrictivo, por lo que resulta difícil definir unos criterios específicos para el diagnóstico de MCR.

Se conoce poco sobre las bases moleculares de la MCR debido a la gran cantidad de casos idiopáticos. Mayoritariamente es compatible con herencia autosómica dominante, aunque también se ha descrito herencia recesiva, ligada al cromosoma X y mitocondrial. Se han descrito mutaciones en distintos genes comunes con otras miocardiopatías, por ejemplo estudios recientes en pacientes con MCR han identificado mutaciones patogénicas en hasta el 54 - 60%

de los casos, principalmente en los genes sarcoméricos *TNNI3* y *MYH7*; también se han identificado mutaciones en genes que codifican proteínas del citoesqueleto o el disco-Z (Tabla 5) [130]–[138].

Tabla 5. Genes y sus proteínas asociados con miocardiopatía restrictiva

		Gen	Proteína
Genes de la sarcómera	<i>Filamento grueso</i>	<i>MYH7</i>	Cadena pesada de miosina $\beta$
		<i>MYL3</i>	Cadena ligera de miosina esencial
	<i>Filamento fino</i>	<i>ACTC1</i>	Actina $\alpha$ cardiaca
		<i>TNNC1</i>	Troponina C cardiaca
		<i>TNNI3</i>	Troponina I cardiaca
		<i>TNNT2</i>	Troponina T cardiaca
		<i>TPM1</i>	Tropomiosina $\alpha$
	<i>Disco Z</i>	<i>TTN</i>	Titina
		<i>MYPN</i>	Miopaladina
		<i>BAG3</i>	BLC2-asociado a athanogene 3
Genes no sarcoméricos	<i>Citoesqueleto</i>	<i>CRYAB</i>	Alfa beta cristalina
		<i>DES</i>	Desmina
		<i>FHL1</i>	Four-and-a-half LIM domains 1
	<i>Otros genes</i>	<i>GLA</i>	$\alpha$ -galactosidasa A
		<i>LAMP2</i>	Proteína 2 de membrana asociada a lisosomas
		<i>TTR</i>	Transtiretina
		<i>LMNA</i>	Lamina
		<i>AGL</i>	Enzima desramificadora del glucógeno
		<i>GAA</i>	Proteína $\alpha$ -glucosidasa ácida
		<i>GBA</i>	$\beta$ -glucocerebrosidasa

Se han detectado mutaciones en *DES* y *CRYAB* que causan desminopatías, enfermedades muy raras que se presentan frecuentemente como MCR y arritmias o trastornos de la conducción cardiaca [139]–[141]. Las guías internacionales más recientes para el estudio genético de las miocardiopatías recomiendan descartar la amiloidosis cardiaca debida a mutaciones en el gen *TTR* en pacientes con MCR ya que hasta un 10% de los pacientes afroamericanos mayores de 65 años son portadores del cambio p.Val142Ile y estos pacientes requieren un manejo clínico diferente con un tratamiento específico [97], [142]. Dichas guías recomiendan, además, considerar el estudio de los genes asociados con MCH y MCD en pacientes con MCR a causa del alto grado de solapamiento entre las miocardiopatías. La MCR se considera una enfermedad monogénica, pero se piensa que pueden existir factores moduladores como polimorfismos o segundas mutaciones, factores epigenéticos o medioambientales que explicarían la expresividad variable del fenotipo en distintos individuos de la misma familia con la misma mutación patogénica. Aproximadamente el 30% de las MCR son familiares y se ha observado que es muy común que coexistan MCH y MCR, incluso fenotipos mixtos, en una familia con la misma mutación [143]. Estudios *in vitro* y en modelos

murinos sugieren que la alteración de la sensibilidad al calcio puede jugar un papel importante en el desarrollo de esta miocardiopatía [144], [145].

### 3.1.3 Miocardiopatía arritmogénica

Recientemente se ha publicado un documento consenso de expertos sobre evaluación, estratificación de riesgo y manejo de la Miocardiopatía arritmogénica (MCA) [78]. En ella se introducen nuevos conceptos en torno al término MCA ya que se describe como un término inclusivo que contempla trastornos arritmogénicos del miocardio caracterizados por arritmia sintomática y/o bien documentada (arritmia auricular, ventricular o trastorno de la conducción) como rasgo distintivo, no explicada por isquemia, miocardiopatía hipertensiva o enfermedad valvular. Se considera un término que incluye un amplio espectro de enfermedades genéticas, sistémicas, infecciosas e inflamatorias. Entre otras, abarca: MAVD/VI, amiloidosis cardiaca, sarcoidosis, enfermedad de Chagas y MCNC. La MCA se propone como un tipo de enfermedad con “vías finales comunes”, con heterogeneidad genética, pero fenotipos similares [146]. Es decir, los fenotipos estarían causados por alteraciones en genes que codifican proteínas con funciones similares o que participan en una vía común y dichas vías comunes pueden interaccionar solapándose. De estas interacciones entre vías comunes pueden surgir fenotipos complejos como, por ejemplo, la miocardiopatía dilatada arritmogénica. Es frecuente que el fenotipo solape con la dilatada, pero puede solaparse también con otras miocardiopatías, como la hipertrófica o restrictiva, cuya vía común es el sarcómero, o con la miocardiopatía no compactada, cuyas vías comunes serían el sarcómero y el citoesqueleto. Las alteraciones genéticas más comunes en la MCA se recogen en la Tabla 6 [78].

Tabla 6. Alteraciones genéticas más comunes y el fenotipo asociado en la miocardiopatía arritmogénica.

Gen / Grupo de genes	Fenotipo asociado
<b>Genes desmosomales</b>	MAVD/MAVI
<i>LMNA</i>	Laminopatías
<i>SCN5A</i>	SBr y MCD
<i>PLN</i>	MCH, MCD, MAVD/VI, arritmias ventriculares
<i>TMEM43</i>	MCD, MAVI
<i>FLNC</i>	MCD, MCH
<i>RBM20</i>	Forma arritmogénica de MCD
<i>DES</i>	MCD, desminopatías (patrón restrictivo y arritmias), MAVD y miopatía esquelética

MAVI: Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo izquierdo.

En el consenso publicado en 2019 se destaca también la importancia del estudio genético en la MCA. Está recomendado priorizar el estudio de un listado (provisional) de 15 genes en pacientes y fallecidos con diagnóstico de MCA: *BAG3*, *DES*, *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *FLNC*, *JUP*, *LDB3*, *LMNA*, *NKX2-5*, *PKP2*, *PLN*, *RBM20*, *SCN5A* y *TMEM43* [78]. En torno al 3-6% de los pacientes presentan dos o más mutaciones que contribuyen en el fenotipo asociando mayor

gravedad [147]–[149]. También se han detectado variaciones en el número de copias (CNV) en aproximadamente un 5% de los pacientes [150].

La MAVD y MAVI se consideran subtipos de la MCA. La MAVD se caracteriza por afectación preferencial o exclusiva sobre el ventrículo derecho (VD) con bloqueo de rama izquierda, taquicardia ventricular y reemplazamiento del tejido miocárdico del VD por tejido fibroso o fibroadiposo a nivel histológico. En ella coexiste una alteración funcional y estructural del VD (disfunción y dilatación del VD). Inicialmente se describió con afectación exclusiva de VD (forma clásica), pero con los años se ha visto que puede afectar también a los dos ventrículos (forma biventricular) o incluso de forma preferencial o exclusiva al VI [78]. Se propuso utilizar el término “ALVC” (MAVI, en inglés *Arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy*) para reconocer la miocardiopatía arritmogénica con afectación inicial del VI y diferenciarla de MAVD [151], [152].

La MAVD es una miocardiopatía con alta variabilidad geográfica cuya prevalencia se estima en 1/2000 - 5000 individuos dependiendo del área estudiada [153], [154]. Aunque se piensa que en algunos casos puede estar infra o sobrediagnosticada por la dificultad de su diagnóstico [155]. Es una causa reconocida de muerte súbita en el individuo joven, siendo responsable de aproximadamente el 17% de las MSC en el adulto joven. Cobra especial importancia en deportistas ya que es una de las principales causas de MSC durante la práctica deportiva llegando a causar la muerte en un 11-22% en deportistas [156]–[158]. La penetrancia de la MCA está relacionada con la edad, por lo que es raro que se manifieste en la infancia o adolescencia ya que en fases tempranas de la enfermedad puede pasar desapercibida; suele ser más evidente a partir de la segunda a cuarta década de vida [159]–[161]. Las manifestaciones clínicas son muy variadas y consisten, generalmente, en arritmias frecuentes que varían desde extrasistolia ventricular hasta taquicardia o fibrilación ventricular. En ocasiones, la primera manifestación de la enfermedad es el paro cardíaco, principalmente durante el esfuerzo. Asimismo, se ha descrito que la enfermedad puede pasar por distintas fases [162]:

1. Fase preclínica u “oculta”: normalmente tiene lugar hasta los 30 años; los individuos son asintomáticos, las alteraciones estructurales no se manifiestan, pero existe riesgo de arritmias ventriculares durante las cuales puede ocurrir la MSC, especialmente durante la práctica de deporte.
2. Fase de arritmias o de manifestación de trastorno eléctrico: suele ocurrir a partir de los 40–50 años, aproximadamente; en esta fase aparecen frecuentemente arritmias ventriculares, habitualmente relacionadas con práctica deportiva.
3. Fase de fallo del VD: a partir de los 50 años; la función mecánica del VD se ve comprometida, pueden observarse arritmias y signos de insuficiencia cardíaca derecha.
4. Fase de fallo biventricular: aparece dilatación, emulando MCD, fallo biventricular e insuficiencia cardíaca; las arritmias pueden ser polimórficas.

El diagnóstico es uno de los más difíciles dentro de las miocardiopatías familiares debido a la ausencia de criterios diagnósticos específicos, la gran variabilidad en la expresión fenotípica y la penetrancia incompleta [78], [152]. El pronóstico de la MAVD/VI para el manejo y tratamiento de pacientes se realiza mediante una estratificación del riesgo de arritmias ventriculares (optimizado para la forma clásica; <https://arvcrisk.com/>) [163].



Aunque se han propuesto distintas teorías para explicar la etiopatogenia de la MAVD, la teoría distrófica es la que prevalece actualmente por las similitudes entre MAVD/VI y distrofias musculares esqueléticas [164]. De acuerdo con esta teoría, los depósitos fibroadiposos se consideran tejido cicatricial que reemplaza los miocardiocitos muertos. En este sentido, las mutaciones en pacientes con MAVD/VI causarían la muerte de los miocardiocitos y del tejido miocárdico y, a su vez, producirían una señal aberrante para la reparación de los mismos [165].

Aproximadamente el 50% de los pacientes son portadores de mutaciones que afectan a los discos intercalares. La MAVD se ha considerado, tradicionalmente, una enfermedad desmosomal, pero con el hallazgo relativamente reciente del *area composita* y la compleja interacción entre todos los componentes, se piensa que la base fisiopatológica de la MAVD/VI no debería ceñirse solo a los desmosomas sino entenderse como una enfermedad intercalar. Esta interdependencia de los componentes de los DI hace que la alteración de la función de las proteínas que lo integran pueda causar tanto disfunción mecánica como eléctrica [46], [166]. De este modo, las alteraciones genéticas deteriorarían los DI produciendo el desprendimiento de los miocardiocitos y su muerte para, posteriormente, ser reemplazados por tejido fibroso. Se cree que la alteración del metabolismo de la placoglobina es una de las causas de la patogénesis [167].

Entre el 30 y el 58% de los pacientes con MAVD presentan mutación patogénica conocida [168]–[170]. *PKP2* es el gen más frecuentemente mutado, siendo responsable de hasta el 10-45% de las mutaciones en pacientes con MAVD/VI, seguido de *DSP* (10-15%), *DSG2* (7-10%), *DSC2* (2%) y *JUP* (Tabla 7) [47], [161], [171], [172]. También se han detectado mutaciones en genes no desmosomales como *CTNNA3*, *DES*, *FLNC*, *LMNA*, *PLN*, *RYR2*, *TGFB3*, *TMEM43*, *TTN* y recientemente *CDH2* [173]–[177]. Gran parte de los genes descritos hasta el momento se asocian con MAVD, aunque mutaciones en *DSP*, *TMEM43* y *FLNC* explican un número considerable de casos con MAVI [178]–[180]. En algunos genes, dependiendo de la localización y el tipo de mutación, el fenotipo varía. Por ejemplo, en *DSP* la dosis es crítica para el mantenimiento de la integridad epidérmica y mutaciones de pérdida de función se asocian frecuentemente a fenotipos graves de MAVI (a veces similares a MCD) y a MAVD/VI con fenotipo cutáneo [155], [181]. También mutaciones en genes desmosomales pueden dar lugar a una amplia variedad de fenotipos solapantes, como MCD o SBr [182]. Por ejemplo, *PKP2*, la conexina 43 y el canal Nav1.5 interaccionan formando parte del conexoma. La anulación de *PKP2* reduce la funcionalidad del canal Nav1.5, que depende de la conexina 43 [164]. Esta pérdida de funcionalidad del canal Nav1.5 se ha descrito también en pacientes con SBr con mutaciones en *PKP2* lo que sugiere que el canal Nav1.5 tiene un papel importante en la patogénesis de ambas patologías [183].

La mayoría de las mutaciones en pacientes con MAVD/VI son compatibles con una herencia autosómico dominante, pero se han descrito también mutaciones en homocigosis en pacientes con o sin alteraciones cutáneas. Como ejemplo, se ha descrito una región *hot spot* de mutaciones en el extremo N-terminal de *DSP* compatibles con herencia autosómico dominante en pacientes con MAVD y, sin embargo, mutaciones en el extremo C-terminal se han detectado en pacientes con síntomas graves de Enfermedad de Carvajal, con herencia autosómico recesiva [184]. Se ha sugerido también la existencia de posibles mecanismos genéticos más complejos que explicarían la heterogeneidad genética y expresividad variable de esta miocardiopatía [147]. En este sentido, se han descrito individuos de la misma familia portadores de varias mutaciones en el mismo gen o en genes diferentes, asociando fenotipos más graves que los familiares con una única mutación, por efecto de dosis [185], [186].

Tabla 7. Genes y sus proteínas asociados con miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho/izquierdo

	Gen	Proteína
<b>Genes desmosomales</b>	<i>PKP2</i>	Placofilina
	<i>DSG2</i>	Desmogleína 2
	<i>DSP</i>	Desmoplaquina
	<i>DSC2</i>	Desmocolina-2
	<i>JUP</i>	Placoglobina
<b>Genes no desmosomales</b>	<i>CTNNA3</i>	Alpha-T-catenina
	<i>CDH2</i>	N-Cadherina
	<i>TMEM43</i>	LUMA
	<i>LMNA</i>	Lamina A   C
	<i>DES</i>	Desmina
	<i>TTN</i>	Titina
	<i>PLN</i>	Fosfolambán
	<i>RYR2</i>	Receptor de rianodina 2
	<i>SNC5A</i>	Nav1,5
	<i>TP63</i>	Proteína p63
	<i>FLNC</i>	Filamina C
	<i>TGFB3</i>	TGF-beta 3

Tabla modificada de Gandjbakhch *et al.*, 2018 [187].

### 3.1.4 Miocardiopatía no compactada

La MCNC se caracteriza por la presencia de trabeculaciones ventriculares prominentes asociadas a múltiples recesos intertrabeculares profundos en el VD y/o VI que se asocian, a menudo, con una capa delgada de miocardio epicárdico compactado. Aunque la trabeculación suele manifestarse en el VI, puede presentarse también en ambos ventrículos o solo en el VD. Suele decirse que esta miocardiopatía da al miocardio un aspecto esponjoso [188], [189].

Las manifestaciones clínicas son muy variables ya que hay muchos pacientes con MCNC que son asintomáticos, mientras otros presentan insuficiencia cardíaca, tromboembolismo, anomalías en la conducción, arritmias o MSC [190]. Las anomalías en la conducción y arritmias, comunes en pacientes con MCNC, estarían producidas por la alteración del correcto desarrollo embrionario. Estas alteraciones parecen ser la causa también de las alteraciones de la repolarización que se detectan en aproximadamente un 40% de los pacientes y de la prolongación del intervalo QT en hasta un 50% de los pacientes [191]–[193].

La MCNC puede presentarse aislada, asociada a cardiopatías congénitas o asociada a miocardiopatías [194], [195]. Se estima que aproximadamente la mitad de los casos de MCNC son de etiología genética, de los cuales un 30% tiene causa genética conocida y el 20% restante son pacientes de MCNC con familiares afectados sin defecto genético identificado [196], [197].

La MCNC de origen genético más común en niños se debe a formas sindrómicas ligadas al cromosoma X, mitocondriales o cromosómicas; se asocia frecuentemente con cardiopatías

congénitas y síntomas neuromusculares, siendo más grave y de peor pronóstico [198]. Se relaciona con la hipótesis de la patogénesis embrionaria, según la cual se trataría de un trastorno genético resultante de la detención de la maduración y compactación trabecular ventricular normal durante el desarrollo embrionario [199]. Distrofias miotónicas (enfermedad de Steinert autosómico dominante por mutaciones en *DMPK*), síndrome de Barth (trastorno recesivo ligado al cromosoma X por mutaciones en el gen de la tafazzina, *TAZ*), cardiopatías congénitas como defectos septales auriculares, anomalía de Ebstein o Tetralogía de Fallot son algunas patologías asociadas. Se han identificado también mutaciones en otros genes implicados en el desarrollo de la trabeculación, como el gen de la neuregulina, receptores de tirosinquinasa ErbB2, angiopoietina-1, *NKX2-5*, etc [190], [199], [200].

La MCNC que se diagnostica en adultos es, principalmente, la forma aislada o acompañada de MCD, MCH, MCR, y MAVD; se debe, sobre todo, a mutaciones en genes sarcoméricos, aunque también se han identificado mutaciones en genes de canales iónicos o vías de señalización. Se han descrito mutaciones en hasta 80 genes, siendo los más frecuentemente mutados *MYH7*, *ACTC1*, *MYBPC3* y *TTN* [190]. Sin embargo, el gen mutado varía en función de la edad del diagnóstico y el fenotipo cardíaco del paciente. Según un estudio reciente de van Waning *et al.* con la mayor cohorte de pacientes con MCNC estudiada hasta el momento (incluía 52 niños y 275 adultos), el fenotipo más frecuente en MCNC familiar fue MCNC+MCD, cuyas mutaciones se localizaban principalmente en *MYH7* y *TTN* relacionándose con peor pronóstico y familiares con mayor riesgo de presentar MCD (sin hipertrabeculación); en pacientes con fenotipo MCNC+MCH y mayor riesgo de MCH en familiares, el gen más mutado fue *MYBPC3* [190]. En el estudio de exoma de una cohorte de 95 pacientes (68 casos índice y 27 familiares) con MCNC por Sedaghat-Hamedani *et al.*, los genes más mutados fueron *TTN* (19%), *LMNA* (7%), *MYBPC3*, *DSP* (ambos 4%) y *MYH7* (3%) [201]. La mayoría de los casos son compatibles con patrón de herencia autosómico dominante y penetrancia incompleta.

La presencia de trabeculaciones y no compactación también puede ser adquirida en individuos que practican deporte intenso y en embarazadas. Estas formas adquiridas son reversibles o casi reversibles [202], [203].

### 3.1.5 Miocardiopatía dilatada

La MCD se define como dilatación del ventrículo izquierdo o ambos ventrículos y disfunción sistólica que no se justifica por una sobrecarga anormal o daño miocárdico isquémico. Actualmente, es la tercera causa de insuficiencia cardíaca y primera de trasplante cardíaco en el mundo [2]. La MCD se describe como una entidad dinámica capaz de sufrir remodelado inverso en hasta un 40% de los casos, con mejoría de la función ventricular, reducción de las dimensiones del ventrículo y una mejora en el pronóstico. Este remodelado puede ser por respuesta a tratamiento o por causa genética subyacente [204], [205].

Esta miocardiopatía se presenta en personas de todas las edades. Por la complejidad del diagnóstico, la prevalencia exacta es desconocida, pero se estima que afecta aproximadamente a 1/250 personas, siendo aproximadamente un 30-50% formas familiares [206]. En niños se calcula una incidencia de 0,57 en 100 000, con relativamente alta mortalidad en su primer año de vida. Las causas más comunes de MSC en pacientes con MCD son la insuficiencia cardíaca progresiva y las arritmias ventriculares [2].

La MCD aún no está completamente caracterizada y entendida ya que es un término que abarca muchas entidades diferentes con alteraciones eléctricas y funcionales que, además,



varían con el tiempo [207]. Hay un gran número de etiologías descritas en relación con ella. La forma familiar representa en torno a un 40% de los casos, pero un gran número de enfermedades adquiridas pueden causar MCD, principalmente inflamatorias, infecciosas y sistémicas. Estas últimas pueden ser endémicas según la zona geográfica como, por ejemplo, la causada por la Enfermedad de Chagas. Los medicamentos y las toxinas pueden ser también causa de formas adquiridas [208], [209]. La predisposición genética se ha descrito como una de las posibles causas subyacentes a las formas de MCD adquiridas tras la exposición de factores exógenos como medicamentos, alcohol, infección o embarazo, que actuarían como desencadenantes [210], [211].

La heterogeneidad clínica viene dada en gran parte por la marcada heterogeneidad genética de la MCD. Se han descrito más de 100 genes relacionados, involucrados en diferentes niveles del miocardiocito, lo que ha hecho que se piense en el término de MCD como un término que designa a un grupo de enfermedades, en lugar de una única forma de miocardiopatía [210]. Aunque todavía se desconocen la mayoría de los mecanismos por los que las mutaciones causan MCD y el papel de los factores ambientales en su desarrollo, se han propuesto varios mecanismos moleculares para explicar la disfunción sistólica, el rasgo fisiopatológico más característico. Estos mecanismos dependen del gen mutado y la estructura afectada. El mecanismo más común es el déficit en la generación de la fuerza de contracción del sarcómero, causado por mutaciones en genes sarcoméricos. Este déficit puede aumentar el volumen ventricular para mantener el rendimiento cardíaco y dar lugar al adelgazamiento de la pared del VI, una de las características morfológicas en la MCD [36]. Las mutaciones en genes sarcoméricos o del disco Z son las causas más comunes de MCD ya que el 19-25% de casos de MCD familiar se explicarían por mutaciones truncantes en *TTN* (*TTN<sub>trvs</sub>*), mientras que un 5-10% se explicarían por mutaciones en *MYH7*, *TNNT2*, *TPM1*, *MYBPC3* y *BAG3* ( ) [41], [212]–[215]. Recientemente, Mazzarotto *et al.* publicaban los resultados de un estudio de caracterización genética de pacientes con MCD incluyendo la mayor cohorte de pacientes con esta patología hasta ahora publicada [215]. Los resultados indican una prevalencia significativa de variantes truncantes en *TTN*, *DSP*, *LMNA*, *BAG3* y *VCL*, no truncantes en *MYH7*, *TNNT2*, *TNNC1*, *LMNA* y *TPM1* y variantes truncantes y no truncantes en *ACTC1*, *NEXN* y *PLN* en pacientes con MCD frente a controles y población general. Señalan, además, que variantes raras en *TPM1* y *VCL* son significativamente prevalentes en población menor de 18 años (en el estudio no incluyen el análisis de *RBM20* y *FLNC*).

El gen *TTN* codifica varias isoformas de titina, de las cuales sobre todo dos se expresan en el miocardio del adulto: N2BA y N2B. La banda A de estas isoformas está enriquecida en *TTN<sub>trvs</sub>* causantes de MCD. De hecho, se estima que alrededor de un 2% de la población podría presentar *TTN<sub>trvs</sub>*, pero localizadas fuera de dichas regiones enriquecidas [41]. Diversos estudios funcionales indican que las *TTN<sub>trvs</sub>* causan haploinsuficiencia y que sus niveles de expresión se correlacionan con el contenido del sarcómero [223]. Las *TTN<sub>trvs</sub>* pueden causar respuestas cardíacas fallidas, limitando la respuesta compensatoria del corazón ante determinadas situaciones de estrés fisiológico o ambiental; esto podría explicar la forma de MCD periparto o la miocardiopatía inducida por antraciclinas [224], [225].

Tabla 8. Genes principales y sus proteínas asociados con miocardiopatía dilatada.

Gen	Proteína
<b>ABCC9</b>	SUR2
<i>ACTC1</i>	Actina $\alpha$ cardiaca
<i>ACTN2</i>	Actinina $\alpha 2$
<i>ANKRD1</i>	Dominio 1 de repetición de ankirina
<i>BAG3</i>	Atanogén 3 asociado a BCL2
<i>CSRP3</i>	Proteína LIM muscular
<i>DES</i>	Desmina
<i>DMD</i>	Distrofina
<i>DSG2</i>	Desmocolina 2
<i>DSP</i>	Desmoplaquina
<i>EMD</i>	Emerina
<i>EYA4</i>	Fosfatasa y coactivador transcripcional 4 de EYA
<i>FHL1</i>	Four-and-a-half LIM domains 1
<i>FKTN</i>	Fukutina
<i>FLNC</i>	Filamina C
<i>LAMA4</i>	Aminina $\alpha 4$
<i>LAMP2</i>	Proteína de membrana 2 asociada a lisosoma
<i>LDB3</i>	Proteína 3 de unión a dominio LIM
<i>LMNA</i>	Lamina A/C
<i>MYBPC3</i>	Proteína C de unión a miosina
<i>MYH6</i>	Cadena pesada de la $\alpha$ -miosina
<i>MYH7</i>	Cadena pesada de miosina $\beta$
<i>MYPN</i>	Miopaladina
<i>NEBL</i>	Nebulette
<i>NEXN</i>	Nexilina
<i>OBSL1</i>	Obscurina
<i>PLN</i>	Fosfolambán
<i>PSEN1</i>	Presenilina 1
<i>PSEN2</i>	Presenilina 2
<i>RBM20</i>	Proteína de repetición 20 de unión a ARN
<i>SCN5A</i>	Nav1.5
<i>SDHA</i>	Subunidad A del complejo succinato-deshidrogenasa
<i>SGCD</i>	Sarcoglicano $\delta$
<i>SLC22A5</i>	Proteína OCTN2
<i>TAZ</i>	Tafazzina
<i>TCAP</i>	Teletonina
<i>TMPO</i>	Timopoyetina
<i>TNNC1</i>	Troponina C cardiaca
<i>TNNI3</i>	Troponina I cardiaca
<i>TNNT2</i>	Troponina T cardiaca
<i>TPM1</i>	Tropomiosina $\alpha$
<i>TTN</i>	Titina
<i>VCL</i>	Vinculina

Las mutaciones en otros genes sarcoméricos se encuentran en los sitios de unión al ATP, posiblemente alterando la hidrólisis y las interacciones actina-miosina disminuyendo la fuerza del sarcómero y la función sistólica. Mutaciones en estos genes disminuirían la sensibilidad al calcio (al contrario que en la MCH), y se potenciaría el bloqueo actina-miosina por tropomiosina a concentraciones típicas de contracción [36].

Se han descrito correlaciones genotipo-fenotipo para mutaciones en distintos genes. Por ejemplo, las laminopatías, por mutaciones en *LMNA* y *EMD*, corresponden a un 6% de los pacientes con MCD que, en su mayoría, tienen también fallos en la conducción cardiaca. Las mutaciones en *LMNA* se asocian con laminopatía de penetrancia alta con MCD de inicio en la década de los 30, alteración de la conducción cardiaca, fibrilación auricular, arritmias ventriculares y MSC [20], [212], [216], [217]. Las mutaciones en genes del citoesqueleto como *DES*, *DMD*, *FLNC*, *MYPN*, *NEXN*, *NEBL*, *LDB3*, *OBSL1* o *VCL* son responsables de aproximadamente el 11% de MCD y podrían estar implicadas en el remodelado inverso [205]. Las mutaciones truncantes en *FLNC* tienen penetrancia casi completa a los 40 años y se asocian con formas graves de MCD con riesgo alto de arritmias ventriculares potencialmente letales y MSC, con un fenotipo que solapa, parcialmente, con MCA [123], [218], [219]. Mutaciones en *SCN5A* (se concentran en dos regiones específicas del canal) se relacionan con mayor riesgo de arritmias, así como bloqueo auriculoventricular en MCD [220], [221].

Aproximadamente el 13% de los pacientes presentan dos o más mutaciones, lo que se ha asociado a un fenotipo más grave con peor pronóstico [212], [222]. En algunos casos, la misma mutación se relaciona con distintos fenotipos en individuos de la misma familia. Factores como la inflamación, el ejercicio o los medicamentos se han descrito como desencadenantes de MCD en individuos en los que existe predisposición genética [223]–[225]. La presencia de CNVs se ha estudiado también en pacientes con MCD detectándose en algo más del 4% de los pacientes [150].

El solapamiento clínico es otra de las características que describe a la MCD, principalmente con MCA o MCH. Llama la atención el alto porcentaje de mutaciones identificadas en pacientes con MCD previamente asociadas con MCH, MCA, MCR y canalopatías [226].

### 3.2 Síndromes arritmogénicos hereditarios (canalopatías)

Los síndromes arritmogénicos hereditarios o canalopatías cardíacas son trastornos hereditarios causados por mutaciones en genes que codifican proteínas de los canales iónicos que controlan la actividad eléctrica del corazón. Estas mutaciones predisponen al desarrollo de arritmias ventriculares fatales alterando las corrientes implicadas en el potencial de acción o interrumpiendo el ciclo del calcio (básico para el acoplamiento electromecánico en los miocardiocitos). Se estima que suponen un tercio de SUD en jóvenes con un corazón “normal” (sin anomalías estructurales) y en torno a un 10% de SIDS [227], [228]. Estos síndromes son mayoritariamente autosómico dominantes, no obstante, se han reportado casos compatibles con herencia recesiva, ligada al X y mitocondrial. Aunque tradicionalmente eran consideradas patologías mendelianas, actualmente se considera que, por lo menos en algunas de sus formas, existe una base genética compleja en la que distintas variantes genéticas contribuyen en el fenotipo final del paciente [229]. Este hecho junto a determinados factores ambientales y hábitos de vida se han propuesto explicaciones de la penetrancia incompleta y la expresividad variable que caracteriza a estos síndromes [230].

### 3.2.1 Síndrome QT largo

El SQTl incluye diferentes tipos de enfermedades caracterizadas por: retraso en la repolarización del miocardio reflejado en prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma, anomalías morfológicas en las ondas T y susceptibilidad a desarrollar taquicardia ventricular polimórfica o *Torsades de Pointes* (TdP) (Ilustración 7). TdP normalmente termina espontáneamente causando síncope, pero algunas veces puede degenerar en fibrilación ventricular y muerte súbita cardíaca si no hay desfibrilación. Por ello, el SQTl se asocia con mayor riesgo de muerte súbita cardíaca en corazones estructuralmente normales, principalmente ante emociones, deportes, estímulos auditivos o durante el sueño [231], [232]. La prolongación del intervalo QT puede ser hereditaria o adquirida, esta última principalmente inducida por fármacos.

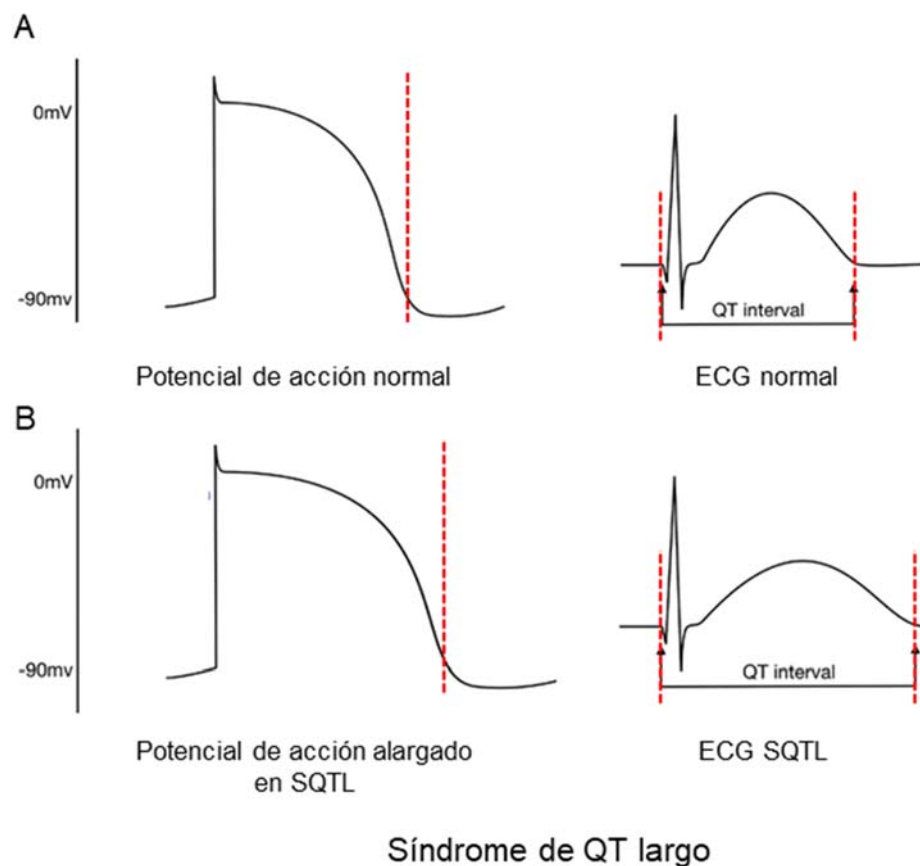


Ilustración 7. Síndrome de QT largo. Representación simplificada comparando el potencial de acción y el electrocardiograma (ECG) sin alteraciones (A) y en pacientes con síndrome de QT largo (B). Adaptado de Abrams *et al.*, 2014 [233].

Se estima una prevalencia global de 1/2500, siendo de 1/2000 en población caucásica para SQTl autosómico dominante y 1/200 000 para SQTl autosómico recesivo, de acuerdo a datos epidemiológicos del norte de Europa [234], [235]. El SQTl puede llegar a ser responsable del 15-20% de SADS y 10% de SIDS; alrededor del 5% de los pacientes no tratados presenta MSC como primera manifestación del síndrome [52].

El intervalo QT se acorta cuanto más alta es la frecuencia cardíaca, por ello, para el diagnóstico de SQTl, se utiliza el intervalo QT corregido por la frecuencia cardíaca o QTc en un ECG de 12 derivaciones usando la fórmula de Bazett [236]. Se diagnostica SQTl cuando el

paciente tiene  $QTc \geq 480\text{ms}$  ( $470\text{ms}$  en hombres), una mutación patogénica confirmada (independientemente de la duración del QT) y cuando la puntuación de riesgo es  $> 3$ , siendo este valor la suma de puntos asignados a un listado de criterios electrocardiográficos, de la historia clínica y de la historia familiar [237]. Los pacientes con intervalos de  $QTc \geq 460\text{ms}$  –  $470\text{ms}$  ( $450\text{ms}$  en hombres) se considera que tienen probabilidad intermedia de diagnóstico de SQTl, sin embargo,  $QTc \geq 460\text{ms}$  se considera criterio diagnóstico de SQTl en presencia de síncope inexplicable (en ausencia de causas secundarias de prolongación del QT) [237]. No obstante, el diagnóstico se complica teniendo en cuenta que el intervalo QT varía con la edad, el sexo (las mujeres tienen intervalos de aproximadamente  $10\text{ms}$  más que los hombres) y el tiempo (es dinámico) e incluso puede ser normal en pacientes con síncope previos o en presencia de mutaciones patogénicas [238], [239]. Por eso, hay un rango de duraciones que se consideran intervalo QT límite o *borderline*, que van desde  $QTc = 440\text{ms}$  –  $450\text{ms}$  en hombres y  $450\text{ms}$  –  $470\text{ms}$  en mujeres, teniendo en cuenta que en torno al 15% de la población general estaría en el rango *borderline* [239].

Hasta el momento se han descrito 17 subtipos o formas de SQTl (resumidas en la Tabla 9), cada una de ellas relacionada con un gen: *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *ANK2*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *CACNA1C*, *CAV3*, *SCN4B*, *AKAP9*, *SNTA1*, *KCNJ5*, *CALM1*, *CALM2*, *CALM3* y *TRDN* [240]. Se han descrito también variantes en otros genes que aún no han sido asociados a ninguna forma específica de SQTl, como *SCN1B*, *RYR2*, *TRPM4* o, recientemente, *RNF207* [241][242]. Se identifica mutación causal en aproximadamente un 50 - 86% de los casos de SQTl, siendo tres genes responsables de hasta el 75% de los casos positivos: *KCNQ1*, que codifica el canal de potasio  $Kv7.1$  (corriente  $I_{Ks}$ ) y representa aproximadamente el 30 - 35% de los casos (forma SQTl1); *KCNH2*, que codifica el canal de potasio  $Kv11.1$  ( $I_{Kr}$ ; SQTl2) y representa el 25 - 40%; y *SCN5A*, que codifica el canal  $Nav1.5$  ( $I_{Na}$ ; SQTl3) responsable del 5 - 10% de los casos. El resto de genes suma menos de un 5% de los casos [240], [243]. La presencia de CNV en pacientes con SQTl también se ha estudiado y es relativamente alta ya que aquellas clasificadas como patogénicas se han detectado en torno a un 1 - 11,5% de los casos, todas en los genes *KCNQ1*, *KCNH2* y *KCNE1*. Cabe destacar, sin embargo, que *KCNQ1* y *KCNH2* son los genes donde más estudios de CNV se han realizado [150].

La alteración de las corrientes iónicas  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$  e  $I_{Na}$  son los tres mecanismos fisiopatológicos principales de SQTl (Ilustración 7) [242]. La prolongación de la duración del potencial de acción está causada frecuentemente por la disminución de las corrientes  $I_{Ks}$  o  $I_{Kr}$  de repolarización, o por la entrada persistente de sodio ( $I_{Na}$ ) que se extiende en la fase 2 del PA; la corriente de  $Ca^{+2}$  puede verse también afectada, aunque es menos frecuente. Una pérdida de la función  $I_{Ks}$  o  $I_{Kr}$  o una ganancia de  $I_{Na}$  predispone a los miocardiocitos ventriculares a PPP o PPT, que podrían subyacer en la generación de *Torsades de Pointes* [244]. Cada subtipo de SQTl se relaciona con la alteración de una corriente, como puede verse en la Tabla 9 [245].

Aunque se ha descrito herencia autosómica recesiva, la mayoría se caracteriza por herencia autosómica dominante. Las formas recesivas se asocian, principalmente a los genes *KCNQ1* y *KCNE1*, dando lugar al síndrome de Jervell y Lange-Nielsen, con QT largo y sordera congénita, y a *TRDN* (triadina) que solapa con TVPC [2], [246]. Algunas formas como SQTl7 y SQTl8 cursan con manifestaciones cardíacas y extracardíacas. Por ejemplo, el SQTl7 o Andersen-Tawil está causado por mutaciones en *KCNJ2* y se caracteriza por la tríada clínica: intervalo QT prolongado, dismorfismo facial y parálisis hiper- e hipocalémica. El SQTl8 o síndrome Timothy, por mutaciones de ganancia de función en el gen *CACNA1C* (afectando a  $I_{Ca,L}$ ), presenta prolongación del QT, sindactilia, malformaciones cardíacas, desórdenes del espectro autista y dismorfia facial [247].

Tabla 9. Bases genéticas y moleculares del síndrome de QT largo

Gen	Proteína	Corriente	Efecto	Prevalencia (subtipo SQT)
<b>Mayoritarios</b>				
<i>KCNQ1</i>	Kv7.1	↓ $I_{Ks}$	pérdida de función	≈40% (SQT1)
<i>KCNH2</i>	Kv11.1 (hERG)	↓ $I_{Kr}$	pérdida de función	≈30% (SQT2)
<i>SCN5A</i>	Nav1.5	↑ $I_{Na}$	ganancia de función	≈10% (SQT3)
<b>Minoritarios</b>				
<i>ANK2</i>	anquirina B	↑ $I_{CaL}$	alteración intercambiadores $Na^+/K^+$ y $Na^+/Ca^{2+}$   interacción IP3	<1% (SQT4; Sd. Anquirina-B)
<i>KCNE1</i>	minK	↓ $I_{Ks}$	pérdida de función	<1% (SQT5)
<i>KCNE2</i>	MiRP1	↓ $I_{Kr}$	pérdida de función	<1% (SQT6)
<i>KCNJ2</i>	Kir2.1	↓ $I_{K1}$	pérdida de función	<1% (SQT7; Sd. Andersen-Tawil, manifestaciones extracardiacas)
<i>CACNA1C</i>	Cav1.2	↑ $I_{CaL}$	ganancia de función	<1% (SQT8; Sd. Timothy, manifestaciones extracardiacas)
<i>CAV3</i>	caveolin-3	↑ $I_{Na}$ ↓ $I_{K1}$	cambios en la expresión de la membrana de Nav1.5/Kir2.1	<1% (SQT9)
<i>SCN4B</i>	NavB4	↑ $I_{Na}$	ganancia de función	<1% (SQT10)
<i>AKAP9</i>	proteína de anclaje A-quinasa 9 (yotiao)	↓ $I_{Ks}$	alteración Kv7.1/interacción PKA	<1% (SQT11)
<i>SNTA1</i>	α1-sintrofina	↑ $I_{Na}$	alteración Nav1.5/interacción compleja NOS-PMCA4b	<1% (SQT12)
<i>KCNJ5</i>	Kir3.4 (GIRK4)	↓ $I_{K,Ach}$	pérdida de función	<1% (SQT13)
<i>CALM1</i>	calmodulina (CaM)	↑ $I_{CaL}$	alteración Cav1.2	<1% (SQT14)
<i>CALM2</i>	calmodulina (CaM)	↑ $I_{CaL}$	alteración Cav1.2	<1% (SQT15)
<i>CALM3</i>	calmodulina (CaM)	↑ $I_{CaL}$	alteración Cav1.2	<1% (SQT16)
<i>TRDN</i>	triadina	↑ $I_{CaL}$	reducción inactivación $I_{CaL}$	<1% (SQT17)
<i>TRPM4</i>	canal potencial de receptor transitorio melastatina 4		pérdida de función	<1%
<i>SCN1B</i>	NavB1	↑ $I_{Na}$	ganancia de función	<1%
<i>RYR2</i>	receptor de la rianodina 2 (RyR2)		desconocido	<1%
<i>RNF207</i>	proteína Ring Finger 207		desconocido	<1%

↑: aumenta la corriente; ↓: disminuye la corriente. Sd.: síndrome. Adaptada de García-Elías y Benito, 2018 [240].



Independientemente del subtipo, la magnitud de la prolongación del intervalo QT es un importante factor de riesgo de sufrir eventos arritmogénicos:  $QTc > 470\text{ms}$  es un factor predictivo de síntomas, mientras que  $QTc > 500\text{ms}$  es indicativo de mayor riesgo de sufrir arritmias malignas. Se consideran también personas con alto riesgo de MSC aquellas con mutaciones en *KCNH2* y *SCN5A*, pacientes menores de 40 años, inicio de síntomas con menos de 10 años y pacientes con paro cardíaco o síncope previos [243].

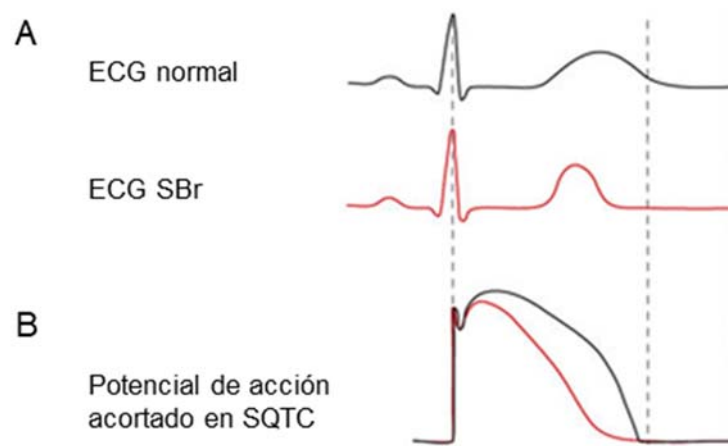
En el manejo de pacientes con SQT, discernir el subtipo y la mutación causal es importante para el manejo del paciente y para determinar posibles factores de riesgo o desencadenantes de la arritmia y establecer una estratificación de riesgo de MSC [2]. Por ejemplo, un alto porcentaje de pacientes con SQT1 tendrían más riesgo de sufrir arritmias por estrés o durante la actividad física en deportes como natación o buceo; las emociones o los sobresaltos como la estimulación auditiva (la alarma del despertador, por ejemplo) son factores desencadenantes frecuentes en pacientes con SQT2; mientras que aquellos con SQT3 sufren la mayoría de los eventos arritmogénicos durante el sueño [248]. También el sexo femenino y el embarazo son otros factores de riesgo de desarrollo de arritmias en pacientes con SQT, o el sexo masculino en caso de adolescentes con SQT1. En las formas más frecuentes (SQT1-3), además, se ha propuesto una correlación entre la localización de la mutación en *KCNQ1*, *KCNH2* y *SCN5A* y un mayor riesgo de sufrir arritmias [248].

Entre el 5 y el 10% de los pacientes con SQT presentan varias mutaciones en el mismo gen o en genes diferentes. Generalmente, mutaciones bialélicas y mutaciones patogénicas en genes diferentes se asocian con fenotipos más graves, mayor prolongación de intervalo QT y más frecuencia de eventos arritmogénicos [249], [250]. Recientemente, Lahrouchi *et al.* investigaron el papel de las variantes comunes de bajo efecto en la susceptibilidad del SQT mediante GWAS (estudio de asociación de genoma completo, por sus siglas en inglés, *Genome Wide Association Study*) [229]. Sus resultados mostraron que las variantes comunes son responsables de aproximadamente el 15% de la variabilidad en la susceptibilidad de SQT. Concretamente, encontraron tres loci asociados con SQT en *NOS1AP*, *KCNQ1* y *KLF12* y la variante *missense* p.Asp85Asn en *KCNE1*. Además, los resultados indican la existencia de arquitectura poligénica del SQT en pacientes sin mutación en los genes *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *CALM1*, *CALM2*, *CALM3* y *TRDN*.

El SQT adquirido se asocia, principalmente, a fármacos que bloquean o inhiben el canal hERG. Este canal, codificado por el gen *KCNH2*, es responsable de la corriente  $I_{Kr}$  y puede ser modulado por fármacos. El riesgo de sufrir SQT inducido por fármacos es multifactorial y se está estudiando la contribución de los factores genéticos en este tipo de eventos (ver apartado 4.2.1.1 Síndrome de QT largo inducido por fármacos (SQT-IF)).

### 3.2.2 Síndrome de QT corto

El síndrome de QT corto (SQT) es un trastorno arritmogénico caracterizado por una reducción de la repolarización cardíaca, presentando un intervalo QT corto con onda T alta y picuda e intervalo entre el pico y el final de la onda T no prolongado (Ilustración 8). Se diagnostica en presencia de (1)  $QTc \leq 340\text{ ms}$  o (2)  $QTc \leq 360\text{ ms}$  y además uno o más de los siguientes criterios (a) mutación patogénica identificada; (b) historia familiar de SQT; (c) historia familiar de MSC antes de 40 años de edad; y (d) supervivencia a un episodio de TV/fibrilación ventricular en ausencia de enfermedad cardíaca [2].



### Síndrome de QT corto

**Ilustración 8.** Síndrome de QT corto. Representación simplificada de un ECG (A) y potencial de acción (B) normales (negro) y típicos de síndrome de QT corto (rojo). Adaptado de Wilde A. y Bezzina C, 2005 [251].

Es un síndrome reciente, descrito por primera vez el año 2000 y reconocido como causa familiar de MSC en 2003. Se han identificado unas 150 familias en todo el mundo y su prevalencia se estima en 0,02 – 0,1% en adultos y 0.05% en edad pediátrica [252]. Es la canalopatía con mayor riesgo de arritmias letales puesto que hasta un 30% de los pacientes con SQTC sufren MSC. Se cree que la baja prevalencia puede deberse, bien a que está infradiagnosticado ya que hay pacientes asintomáticos que nunca experimentarán síntomas, o bien a que en ocasiones pueda no ser compatible con la vida. Hay estudios que sugieren que existen dos picos de riesgo alto de MSC, uno es el primer año de vida, que podría explicar algunos casos de SIDS ya que a esa edad un 4% de los pacientes presentan eventos arritmogénicos; el otro es a los 20 - 40 años en el que se estima que un 40% de los casos presenta síncope a los 40 años, siendo frecuentemente la primera manifestación de la enfermedad [253]. Se caracteriza por una gran variabilidad clínica, los síntomas varían desde mareos, síncope, arritmias ventriculares malignas hasta MSC [254][255]. La estratificación del riesgo de MSC en pacientes con SQTC aún es un reto debido a los pocos pacientes diagnosticados hasta la fecha.

En general, el acortamiento del intervalo QT vendría dado por la repolarización temprana debida a la reducción de corrientes iónicas de repolarización de entrada y el aumento de corrientes de repolarización de salida. Esto predispone a mecanismos de reentrada que producen fibrilación o taquicardia ventricular. Debido a los pocos casos identificados hasta ahora, los mecanismos por los que la mayoría de las mutaciones causan SQTC aún se desconocen. Aproximadamente un 80% de los casos de SQTC son familiares, de ellos en torno el 20-30% se identifica la causa genética. Se considera de penetrancia alta y patrón de herencia autosómico dominante. Hasta el momento se han descrito 8 genes asociados a SQTC, no sin cierta controversia: *CACNA1C*, *CACNA2D1*, *CACNB2*, *KCNH2*, *KCNJ2*, *KCNQ1*, *SCN5A* y *SLC4A3* (Tabla 10) [256]. La mayoría de estos genes están también asociados a otras canalopatías. Tres genes acumulan la mayoría de las mutaciones descritas hasta el momento: *KCNH2* (SQTC tipo 1), responsable del 15% de los casos, *KCNQ1* (SQTC tipo 2) del 5% y *KCNJ2* (SQTC tipo 3) de otro 5% de los casos. Los tres genes codifican canales de salida de potasio y se asocian con mutaciones de ganancia de función (Tabla 10) [255][240]. Mutaciones en *SCN5A* y genes que codifican canales de calcio (*CACNA1C*, *CACNB2*, *CACNA2D1*) se asocian con un fenotipo



mixto de síndrome de Brugada e intervalo QT corto, pero sin diagnóstico de SQTC [257]. Sin embargo, la reclasificación de algunas de las variantes en variantes inciertas o incluso benignas (en *CACNA2D1*), ha puesto en duda la causalidad de estos genes [256]. En los genes *CACNB2* (SQTC tipo 5), *CACNA2D1* (SQTC tipo 6) y *SCN5A* (SQTC tipo 7) solo se ha descrito una variante en cada uno de ellos asociada a SQTC [257]–[259].

Por último, muy recientemente se identificó una variante en el gen *SLC4A3* como causa genética de SQTC tipo 8 [260], pero su asociación con el SQTC está también por confirmar.

Tabla 10. Bases genéticas y moleculares del síndrome de QT corto

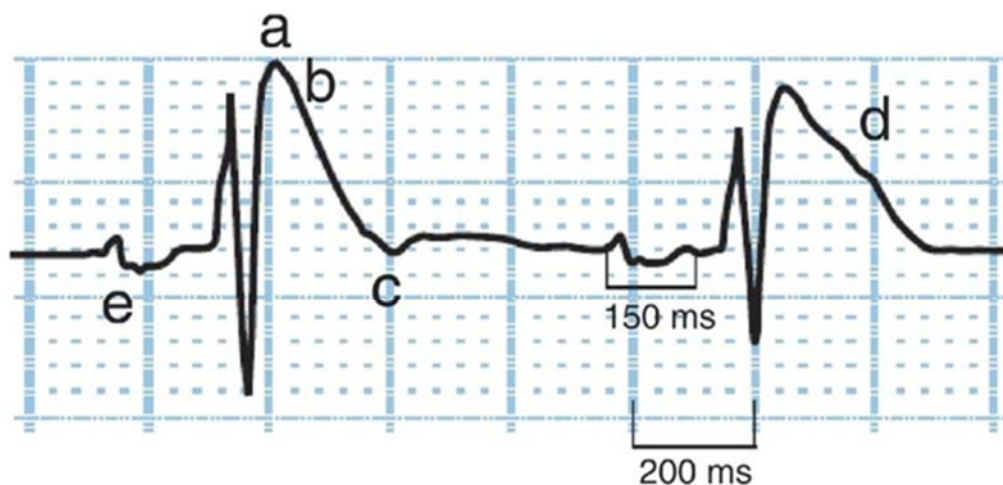
Gen	Proteína	Corriente	Efecto	Prevalencia (subtipo SQTC)
<b>Mayoritarios</b>				
<i>KCNH2</i>	KV11.1/hERG	$\uparrow I_{Kr}$	ganancia de función	$\approx 15\%$ (SQTC1)
<i>KCNQ1</i>	KV7.1	$\uparrow I_{Ks}$	ganancia de función	1-5% (SQTC2)
<i>KCNJ2</i>	Kir2.1	$\uparrow I_{K1}$	ganancia de función	1-5% (SQTC3)
<b>Minoritarios</b>				
<i>CACNA1C</i>	CaV1.2	$\downarrow I_{CaL}$	pérdida de función	<1% (SQTC4; fenotipo mixto acortamiento QT + SBr)
<i>CACNB2b</i>	CavB2b	$\downarrow I_{CaL}$	pérdida de función	<1% (SQTC5; fenotipo mixto acortamiento QT + SBr)
<i>CACNA2D1</i>	Cav $\alpha$ 2 $\delta$ 1	$\downarrow I_{CaL}$	pérdida de función	<1% (SQTC6; fenotipo mixto acortamiento QT + SBr)
<i>SCN5A</i>	NaV1.5	$\downarrow I_{Na}$	pérdida de función	<1% (SQTC7; fenotipo mixto acortamiento QT + SBr)
<i>SLC4A3</i>	intercambiador Cl, HCO <sub>3</sub> (AE3)		pérdida de función	<1% (SQTC8)

$\uparrow$ : aumenta la corriente;  $\downarrow$ : disminuye la corriente. Adaptada de García-Elías y Benito, 2018 [240].

### 3.2.3 Síndrome de Brugada

El síndrome de Brugada (SBr) se describió por primera vez en 1992, sin embargo, hasta cuatro años después no se acuñó el término de Brugada [261], [262]. Se caracteriza por un patrón en el ECG que consiste en elevación del segmento ST de tipo abovedado ( $\geq 2\text{mm}$ ) seguida de una onda T negativa en una o más derivaciones entre las precordiales derechas  $V_1$  y/o  $V_2$  posicionadas en el segundo, tercer o cuarto espacio intercostal (Ilustración 9); puede ocurrir de manera espontánea o inducida mediante la administración intravenosa de fármacos bloqueadores de los canales de sodio (ajmalina, flecainida, procainamida o pilsicainida) [2]. Dicha morfología de la elevación se denomina patrón de Brugada tipo 1 y es la única que se considera criterio diagnóstico de SBr [263]. Este patrón fluctúa con el tiempo, por lo que no siempre se muestra en el ECG basal y puede alternarse con los patrones de repolarización tipo 2 y 3 que no se consideran diagnóstico. El SBr se asocia a un mayor riesgo de fibrilación ventricular y MSC sin alteración estructural, aunque diferentes estudios han revelado que las

alteraciones estructurales a nivel tisular y molecular podrían pasar desapercibidas y ser más comunes de lo que se creía en un principio [264]–[267].



### Síndrome de Brugada

**Ilustración 9. Síndrome de Brugada. Patrón de ECG tipo 1 de síndrome de Brugada detectado en un paciente. a) Elevación punto J; b) Elevación del segmento ST de tipo abovedado; c) Onda T negativa; d) La elevación del segmento ST no es constante, desaparece en el siguiente latido; e) Onda P bifásica y prolongación de onda P. Adaptado de Chen y Priori, 2008 [268].**

El SBr puede presentarse con síncope, convulsiones, palpitaciones, arritmias o taquicardia ventricular polimórfica y fibrilación ventricular que pueden acabar en MSC. Se caracteriza por expresión clínica variable y penetrancia incompleta dependiente de la edad y el sexo. Se estima que la prevalencia del SBr varía entre 1/5000 y 1/2000, aunque es difícil de calcular debido a la fluctuación del patrón del ECG y a la presencia de individuos asintomáticos [269], [270]. Esta prevalencia varía, además, según la región geográfica, siendo más prevalente en las regiones del Este y el sudeste asiático, donde es endémico y alcanza la prevalencia de 15-20 en 10 000; [271] y según el sexo ya que es de ocho a diez veces más prevalente en hombres que en mujeres. Se considera que el SBr es responsable del 4-12% de todas las muertes súbitas y hasta un 20% de muertes súbitas con corazón estructuralmente normal [272]. La muerte súbita se produce principalmente durante el sueño o en situaciones vagales [273]. Aproximadamente un 4,6% de pacientes sufre MSC como primera manifestación de SBr, pudiendo manifestarse a cualquier edad, con un pico a los 40 años [274]. Además, hay factores moduladores que desenmascaran o acentúan el patrón de SBr pudiendo dar arritmias letales, como: la fiebre elevada, los polimorfismos genéticos, la bradicardia, las drogas o determinados fármacos bloqueantes de canal de sodio, antidepresivos tricíclicos, fluoxetina, etc. (ver 4.2.1.2 Síndrome de Brugada inducido por fármacos) [275], [276]. Esto se achaca a los efectos moduladores de estos factores sobre las corrientes iónicas, pero aún no se sabe con exactitud si subyace una susceptibilidad genética que aumenta la disfunción del canal iónico y facilita que estos eventos ocurran [276], [277]. También se han descrito fenocopias de los patrones 1 y 2 de SBr provocadas por otras patologías como isquemia, miocarditis o MCA [278].

Para explicar los mecanismos electrofisiológicos que subyacen en el SBr se barajan dos hipótesis principales basadas en 1) la alteración de la repolarización y 2) la alteración de la despolarización. Sin embargo, no se descarta que el síndrome de Brugada sea el resultado de

distintos mecanismos funcionales y estructurales cooperando entre ellos [279]. La primera hipótesis explica el SBr como un trastorno de repolarización basado en la expresión desigual de  $I_{to}$  en el epicardio y otras capas transmural. Según esta teoría, el desequilibrio de las distintas corrientes iónicas que ocurren en la fase 2 del potencial de acción produce un balance de carga positivo hacia el exterior  $I_{to}$  provocando la pérdida del “domo” o “meseta” que, al expresarse de manera desigual (más en el epicardio que endocardio), produce una dispersión transmural de la repolarización dando el patrón ECG típico de elevación del ST. El desequilibrio de las corrientes iónicas es debido a mutaciones de pérdida de función en el canal Nav1.5 codificado por *SCN5A* que disminuyen  $I_{Na}$ , en los canales de calcio, disminuyendo  $I_{CaL}$ , o variantes en los canales de potasio que aumentan  $I_{to}$ . La dispersión y heterogeneidad de la repolarización facilitan que ocurra un mecanismo de reentrada en la fase 2 que explicaría el desarrollo de arritmias. La segunda hipótesis se basa en la alteración de la despolarización debida al retraso de la conducción en el tracto de salida del VD con respecto al ventrículo derecho [279]. Tiene un papel importante también el conexoma ya que la interacción entre sus componentes, los canales de sodio y las uniones gap, es imprescindible para la generación y propagación del potencial de acción. La explicación radica en la presencia de una alteración estructural (fibrosis) subclínica que junto al retraso de la conducción hace al ventrículo derecho más vulnerable de sufrir una activación de reentrada provocando las arritmias ventriculares. Las variantes de pérdida de función en *SCN5A* producirían una disminución de la corriente de entrada de sodio  $I_{Na}$  durante la fase 0, lo que retrasaría la generación de potencial de acción, pudiendo desencadenar arritmias ventriculares.

En relación a la genética, el SBr es mayoritariamente autosómico dominante, excepto la forma ligada al cromosoma X por mutaciones en el gen *KCNE5* y algunos casos descritos con herencia autosómica recesiva [280], [281]. Aproximadamente se identifica mutación causal en el 30% de los pacientes, la mayoría en el gen *SCN5A*, el único recomendado por las guías actuales para el diagnóstico genético de SBr [282][97]. Se han descrito también variantes patogénicas en: *CACNA1C*, *GPD1L*, *HEY2*, *PKP2*, *RANGRF*, *SCN10A*, *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B*, *SLMAP* y *TRPM4*, que en total representan un 2 – 5% de los pacientes [183], [257], [283]–[286]. Se han propuesto otros genes potenciales, como *ABCC9*, *CACNA2D1*, *CACNB2*, *FGF12*, *HCN4*, *KCND2*, *KCND3*, *KCNE3*, *KCNE5*, *KCNH2*, *KCNJ8*, *LMNA*, *LRRC10*, *SEMA3A*, *TMEM168*, *TPM1* (Tabla 11), sin embargo, su causalidad está aún pendiente de confirmar [287], [288][289]. En algunos casos, un mismo gen se asocia a distintas canalopatías o, incluso, miocardiopatías (*PKP2* y *SCN5A*, por ejemplo), y una misma mutación con diferentes fenotipos en una misma familia [221]. Recientemente se ha relacionado, por primera vez, el gen *MYBPC3* con SBr. Los autores describen una familia en la que los tres portadores de la mutación en el gen *MYBPC3* presentaban distintos fenotipos: MCH el padre y SBr los dos hijos [290]. Estos resultados sugieren que podrían existir mecanismos comunes entre SBr y algunas miocardiopatías [289]. Sin embargo, el papel de estos genes en la patología de SBr aún está bajo debate [289].

*SCN5A* es el gen principal, responsable de aproximadamente un 25 - 30% de los casos de SBr. Este gen codifica la subunidad  $\alpha$  formadora de poro del canal de sodio Nav1.5. La mayoría son mutaciones de pérdida de función que reducen la corriente de sodio  $I_{Na}$  durante la fase 0 del potencial de acción. Se han descrito mutaciones termosensibles que podrían facilitar la arritmogénesis en casos de fiebre o ejercicio intenso [275]. Las mutaciones de ganancia de función del canal se asocian a SQT3 y SIDS, en cambio, otros fenotipos como MCD o fibrilación auricular están asociados a mutaciones de ganancia y pérdida [291]. Algunos autores han propuesto recientemente el síndrome de Brugada como una entidad oligogénica, donde varios *hits* genéticos juntos contribuirían en el fenotipo [284], [289], [292].

Tabla 11. Bases genéticas y moleculares del síndrome de Brugada

Gen	Proteína	Corriente	Efecto	Prevalencia (subtipo SBr)
<b>Mayoritarios</b>				
<i>SCN5A</i>	Nav1.5	↓ $I_{Na}$	Pérdida de función	≈25% (SBr1)
<b>Minoritarios</b>				
<i>GPD1L</i>	glicerol-3-P-DH-1	↓ $I_{Na}$	Interacción con NaV1.5	<1% (SBr2)
<i>CACNA1C</i>	CaV1.2	↓ $I_{CaL}$	Pérdida de función	1-2% (SBr3; fenotipo mixto acortamiento QT + SBr)
<i>CACNB2b</i>	CavB2b	↓ $I_{CaL}$	Pérdida de función	1-2% (SBr4; fenotipo mixto acortamiento QT + SBr)
<i>SCN1B</i>	NavB1	↓ $I_{Na}$	Pérdida de función	<1% (SBr5)
<i>KCNE3</i>	Mirp2	↑ $I_{to}$	Ganancia de función	<1% (SBr6)
<i>SCN3B</i>	NavB3	↓ $I_{Na}$	Pérdida de función	<1% (SBr7)
<i>HCN4</i>	canal dependiente de nucleótidos cíclicos activado por hiperpolarización 4	↓ $I_f$	Pérdida de función	<1% (SBr8)
<i>KCND3</i>	KV4.3	↑ $I_{to}$	Ganancia de función	<1% (SBr9)
<i>KCNJ8</i>	Kir6.1	↑ $I_{K-ATP}$	Ganancia de función	<1% (SBr10)
<i>CACNA2D1</i>	Cav2δ1	↓ $I_{CaL}$	Pérdida de función	<1% (SBr11; fenotipo mixto acortamiento QT + SBr)
<i>KCNE5</i>	MIRP4	↑ $I_{to}$	Ganancia de función	<1% (SBr12)
<i>RANGRF</i>	MOG1	↓ $I_{Na}$	Interacción con NaV1.5	<1% (SBr13)
<i>KCND2</i>	KV4.2	↑ $I_{to}$	Ganancia de función	<1% (SBr14)
<i>TRPM4</i>	canal potencial de receptor transitorio melastatina 4		Ganancia/pérdida de función	<1% (SBr15)
<i>SCN2B</i>	NavB2	↓ $I_{Na}$	Pérdida de función	<1% (SBr16)
<i>PKP2</i>	placofilina-2	↓ $I_{Na}$	Cambio expresión NaV1.5 en discos intercalares	<1% (SBr17)
<i>ABCC9</i>	SUR2	↑ $I_{K-ATP}$	Ganancia de función	<1% (SBr18)
<i>SLMAP</i>	proteína asociada al sarcolema	↓ $I_{Na}$	Interacción con NaV1.5	<1% (SBr19)
<i>KCNH2</i>	KV11.1 (hERG)	↑ $I_{Kr}$	Ganancia de función	<1% (SBr20)
<i>SCN10A</i>	Nav1.8	↓ $I_{Na}$	Pérdida de función	1-10% (SBr21)
<i>FGF12</i>	factor crecimiento fibroblastos 12	↓ $I_{Na}$	Interacción con NaV1.5	<1% (SBr22)
<i>SEMA3A</i>	semaforina-3A	↑ $I_{to}$	Ganancia de función	<1% (SBr23)
<i>HEY2</i>	CHF1	↑ $I_{to}$	Interacción con <i>KCNIP2</i>	<1%
<i>KCNAB2</i>	KvB2	↑ $I_{to}$	Ganancia de función	<1%
<i>TPM1</i>	α-tropomiosina		Desconocido	<1%
<i>MYBPC3</i>	proteína C de unión a la miosina cardíaca		Desconocido	<1%
<i>TMEM168</i>		↓ $I_{Na}$	Disminución Nav1.5	<1%
<i>LRRC10</i>			Desconocido	<1%

↑: aumenta la corriente; ↓: disminuye la corriente. Adaptada de García-Elías y Benito, 2018

### 3.2.4 Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica

La TVPC es un trastorno arritmogénico caracterizado por electrocardiograma normal en reposo y taquicardias ventriculares polimórficas y bidireccionales inducidas por adrenérgicos que pueden acabar en MSC. Las catecolaminas liberadas durante el estrés físico o emocional activan el receptor  $\beta$ -adrenérgico, provocando liberación patológica de calcio durante la diástole, causando arritmias, síncope y MSC en individuos con corazón estructuralmente normal [2][293].

Se estima una prevalencia de 1 en 5000 a 1 en 10 000 individuos dependiendo la población estudiada, pero puede estar infradiagnosticada porque los pacientes con TVPC tienen ecocardiograma y ECG en superficie normales [294]. Generalmente, se manifiesta en la primera década de vida provocado por actividad física o estrés emocional. Existe penetrancia incompleta ya que alrededor de un 15% de los pacientes son asintomáticos, sin embargo, esta canalopatía es una de las más agresivas atendiendo al riesgo de eventos arritmogénicos: alrededor de un 80% de los pacientes sin tratamiento sufre arritmias (45% en pacientes con tratamiento) y hasta un 30 - 50% sufre MSC. En torno a un 15% de las autopsias negativas se atribuyen a TVPC [295], [296].

Se han descrito dos mecanismos que causan la arritmogénesis en TVPC: el aumento de salida de calcio del retículo sarcoplásmico durante la diástole en respuesta a la estimulación adrenérgica, lo que produce PPT y arritmias ventriculares [297][298]; también se ha demostrado recientemente la implicación de la red cardiaca de Purkinje en la iniciación de las taquicardias características de la TVPC [299].

Aproximadamente en un 60-65% de los pacientes se identifica mutación causal. Se han descrito varios genes asociados a TVPC, todos ellos codifican proteínas que forman parte del complejo de salida de calcio del retículo sarcoplásmico (Tabla 12) [300].

La mayoría de las mutaciones se identifican en el gen *RYR2* que codifica el receptor de la rianodina. Es autosómico dominante y responsable de la mayoría de los casos (~60% de todos los pacientes) [301], [302]. Las mutaciones en *RYR2* causan ganancia de función del canal de liberación de calcio receptor de rianodina, RyR2, de forma que los canales se vuelven permeables y se produce una liberación de calcio durante la diástole. La mayoría de las mutaciones en *RYR2* detectadas en los pacientes se encuentran en cuatro regiones descritas como *hot spot* en aminoácidos más conservados que las variantes que identifican en población control [303]. Además, recientemente, Olubando *et al.* comprobaron que todas las variantes no clasificadas como benignas en individuos que fallecieron o sufrieron un paro cardíaco durante el sueño se encontraban en el extremo C-terminal de la proteína, excepto una que se encontraba en el dominio central [303]. Así y todo, la interpretación de las variantes en *RYR2* tiene que realizarse con cautela puesto que alrededor de un 3 % de individuos aparentemente sanos son portadores de variantes raras en este gen [304].

Las mutaciones en el gen *CASQ2* son responsables de <5 % de los casos de TVPC con mutación conocida [305]. El gen *CASQ2* codifica la proteína calsequestrina cardíaca, el mayor reservorio de calcio del retículo sarcoplásmico. Cuando esta proteína está mutada, su expresión disminuye y aumenta el calcio libre en el retículo sarcoplásmico. Este aumento de calcio activará prematuramente RyR2 y se producirán liberaciones de calcio espontáneas y prematuras hacia el sarcómero durante la diástole [306]. Aunque la mayoría de casos son compatibles con herencia autosómico recesiva, también se han descrito casos de herencia autosómico dominante [307]. Se han detectado también mutaciones en el gen *TRDN* que codifica la triadina. Dichas mutaciones provocan la degradación de la triadina y la fuga de calcio del retículo sarcoplásmico



[308][309]. Mutaciones en los tres genes que codifican la calmodulina, *CALM1*, *CALM2* y *CALM3*, son compatibles con patrón autosómico dominante e intervienen también en la regulación de la liberación de calcio por RyR2 [310]–[313]. Estos genes se asocian a un amplio espectro fenotípico (calmodulinopatías), principalmente SQTl, el más común, y TVPC, dependiendo de la localización de la mutación [314]. También el gen *TECRL* se ha descrito recientemente asociado a TVPC con patrón autosómico recesivo y fenotipo solapante de TVPC y SQTl [315], [316]. Por último, hay pacientes con mutaciones en *ANK2* (SQTl4) y *KCNJ2* (SQTl7) que presentan arritmias ventriculares bidireccionales inducidas por estrés que solapan con el fenotipo de TVPC. En este sentido, se ha propuesto una nueva entidad denominada síndrome Anquirina-B, en el caso de variantes en *ANK2*, que abarca distintos tipos de disfunción cardíaca, como prolongación del QT o fenotipo similar a TVPC [317]. En relación a *KCNJ2*, relacionado con el síndrome de Andersen-Tawil, existe solapamiento clínico y es importante incluir este gen en el diagnóstico diferencial de pacientes con TVPC puesto que el pronóstico de SQTl7 es mucho mejor que el de TVPC [318].

Tabla 12. Bases genéticas y moleculares de la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica.

Gen	Proteína	Efecto	Prevalencia (subtipo TVPC)
<b>Mayoritarios</b>			
<i>RYR2</i>	receptor de la rianodina 2 (RyR2)	sobrecarga citoplasmática de $\text{Ca}^{+2}$ por fuga de $\text{Ca}^{+2}$ desde RS	≈50-60% (TVPC1)
<i>CASQ2</i>	calsequestrina 2	disminución del contenido de $\text{Ca}^{+2}$ en el RS y alteración de la regulación de $\text{Ca}^{+2}$	≈5% (TVPC2)
<b>Minoritarios</b>			
<i>TECRL</i>	trans-2,3-enoyl-CoA reductasa-like	disminución del contenido de $\text{Ca}^{+2}$ en el RS y alteración de la regulación de $\text{Ca}^{+2}$	<1% (TVPC3)
<i>CALM1</i>	CaM	fuga de $\text{Ca}^{+2}$ desde el RS por pérdida de la interacción CaM-RyR2	<1% (TVPC4)
<i>TRDN</i>	triadina	sobrecarga citoplasmática de $\text{Ca}^{+2}$ por fuga de $\text{Ca}^{+2}$ desde RS	<1% (TVPC5)
<i>CALM2</i>	CaM	reducción de la afinidad de la unión del $\text{Ca}^{+2}$ en el dominio C de CaM	<1%
<i>CALM3</i>	CaM	reducción de la afinidad de la unión del $\text{Ca}^{+2}$ en el dominio C de CaM y fuga desde el RS	<1%

RS: Retículo sarcoplásmico. Adaptada de García-Elías y Benito, 2018 [240].

#### 4 ARRITMIAS INDUCIDAS POR FÁRMACOS: PROARRITMIAS

Las arritmias ventriculares inducidas por fármacos, denominadas proarritmias, son eventos raros cuya incidencia real no se ha establecido. En la literatura se describe una frecuencia  $\geq 1\%$  de TdP en pacientes con fármacos antiarrítmicos, como amiodarona, quinidina o sotalol [319][320]; y un porcentaje mucho menor con fármacos no antiarrítmicos, como antidepresivos, antipsicóticos, antibióticos, terapia anticáncer, etc. [321]. Pero varios estudios indican que la incidencia está infraestimada por falta de reportes a los organismos de farmacovigilancia o por la dificultad de realizar un ECG durante el evento [322], [323].

Las proarritmias son poco comunes, pero impredecibles y potencialmente peligrosas, principalmente por su relación con TdP; pueden darse incluso en individuos con el mismo tratamiento y características clínicas similares, por eso se buscan continuamente nuevos biomarcadores que puedan predecir qué pacientes tienen mayor riesgo a sufrir dichos eventos [324].

El marcador más utilizado para estimar el riesgo de sufrir TdP inducido por fármacos (TdP-IF) es el intervalo QT. Sin embargo, como marcador de riesgo proarrítmico ha sido puesto en duda por algunos autores, ya que hay medicamentos que aumentan el intervalo QT, pero no son proarrítmicos, y otros que no aumentan el QT y pueden producir arritmias [325], [326]. A pesar de esto, puesto que TdP puede darse en individuos aparentemente sanos a concentraciones terapéuticas, la evaluación de la prolongación del QT y el potencial proarrítmico es un requisito indispensable en el proceso de autorización de nuevos medicamentos no antiarrítmicos [327]. No obstante, a veces estos estudios no llegan a detectar la cardiotoxicidad de los fármacos y, por ello, la capacidad de prolongación del intervalo QT ha sido el motivo de restricciones de uso o de retirada de muchos medicamentos del mercado tras su evaluación relación beneficio-riesgo posautorización [328], [329].

Un intervalo QT prolongado es necesario para que se produzca TdP, pero generalmente no se considera suficiente para inducirlo. Se estima un riesgo alto de TdP cuando el QTc  $> 500$  ms o cuando un medicamento aumenta el QTc 60 – 70 ms [276], [330]. Puede verse también influenciado por factores de riesgo como la presencia de bradicardia, coadministración de otros fármacos que prolongan QT, hipopotasemia, hipomagnesemia o condiciones que alteren el metabolismo de los fármacos como interacciones farmacológicas o variantes genéticas en las enzimas del citocromo P450 (Tabla 13) [276]. El SQTl adquirido suele revertir cuando el factor desencadenante se elimina.

Se han descrito muchos medicamentos que prolongan el QT (SQTl-IF) y/o aumentan el riesgo de TdP. Todos ellos están recogidos en la web [www.crediblemeds.org](http://www.crediblemeds.org) (CredibleMeds®), una base de datos online con continuas actualizaciones según la evidencia publicada en la literatura científica y agencias reguladoras [331]. En esta web, clasifican los medicamentos en cuatro categorías según el riesgo de TdP [332]:

- Riesgo conocido de TdP: la evidencia científica apoya que estos medicamentos prolongan el intervalo QT y tienen riesgo de TdP cuando se usan con las indicaciones autorizadas;
- Posible riesgo de TdP: la evidencia científica apoya que estos medicamentos pueden causar prolongación del intervalo QT, pero no hay evidencia suficiente de que causen TdP cuando se usan según las indicaciones autorizadas;

- Riesgo condicional de TdP: la evidencia científica apoya que estos medicamentos pueden prolongar el intervalo QT y tienen riesgo de TdP, pero solo bajo determinadas condiciones como, por ejemplo, sobredosis o interacción farmacológica;
- Medicamentos que deberían evitarse en pacientes con SQTL congénito: reúne los medicamentos de los tres listados anteriores y, además, aquellos que suponen un riesgo único para estos pacientes, como estimulantes del sistema nervioso central o adrenérgicos.

Tabla 13. Factores de riesgo de *Torsades de Pointes* y síndrome de Brugada inducidos por antidepresivos y antipsicóticos.

Factor de riesgo	Aumento de riesgo de TdP	Aumento de riesgo de SBr
Edad	+	+
Sexo	Mujer	Hombre
Presencia de cardiopatía	+	+
Bradicardia	+	+
Hipopotasemia	+	+/-
Hipomagnesemia	+	-
Interacción farmacológica (fármacos prolongadores QT)	+	-
Interacción farmacológica (bloqueadores canales de Na <sup>+</sup> o Ca <sup>2+</sup> , agonistas parasimpáticos)	+/-	+
Interacción farmacológica (inhibidores de citocromo P450)	+	+
Alteración de la función hepática (↑ concentración del fármaco)	+	+
Predisposición genética	SQTL congénito	SBr congénito

Adaptada de Sicouri y Antzelevich, 2018 [276].

Por otro lado, también se ha descrito asociación entre la aparición de un fenotipo muy similar al patrón 1 de síndrome de Brugada y determinados fármacos (SBr-IF) [333], [334]. El SBr se caracteriza por fluctuar en el tiempo, pero se conocen un gran número de factores que pueden desenmascararlo, como: bloqueadores de los canales de sodio, bloqueadores beta adrenérgicos, fiebre, agonistas alfa adrenérgicos, desequilibrio electrolítico (hiper- e hipopotasemia e hipercalcemia), algunos medicamentos, sobredosis de alcohol o cocaína, etc. (Tabla 13). Estos factores pueden inducir formas adquiridas de SBr y / o arritmias en pacientes con SBr que aumentan el riesgo de muerte súbita cardíaca.



La web [www.bugadadrugs.org](http://www.bugadadrugs.org) recoge el listado de medicamentos relacionados con SBr-IF y /o arritmias en pacientes con SBr. Dividen los medicamentos en cuatro listas, continuamente actualizadas:

- Lista roja: medicamentos que deben evitarse en pacientes con SBr;
- Lista naranja: medicamentos que preferiblemente deben evitarse en pacientes con SBr;
- Lista verde: medicamentos que pueden tener un efecto antiarrítmico en pacientes con SBr;
- Lista azul: medicamentos utilizados para diagnosticar SBr.

El riesgo proarrítmico de los medicamentos es un problema importante de salud pública ya que se asocia con medicamentos comúnmente usados en clínica, además de los antiarrítmicos, como: antibióticos, antidepresivos, antipsicóticos, antihistamínicos, antiepilépticos, etc., algunos de ellos autorizados con restricciones de uso por el riesgo proarrítmico que suponen [335]–[337].

#### **4.1 Proarritmias inducidas por antidepresivos y antipsicóticos.**

El uso de antidepresivos y antipsicóticos ha aumentado en los últimos años. Un gran número de estos fármacos se relaciona con riesgo proarrítmico [338]–[341]. Aunque el riesgo proarrítmico es específico del fármaco y no del grupo terapéutico al que pertenecen, de una manera general puede decirse que los antipsicóticos tienen más potencial torsadogénico que los antidepresivos, que suelen estar más comúnmente asociados a riesgo de TdP por interacciones entre fármacos, sobredosis u otros condicionantes. En cambio, los antidepresivos se relacionan más frecuentemente con SBr-IF que los antipsicóticos, aunque para ambos grupos la mayoría de los casos ocurre como consecuencia de sobredosis o interacción de fármacos [333], [342]–[344]. En la Tabla 14 y Tabla 15 pueden verse los fármacos antidepresivos y antipsicóticos con riesgo de TdP-IF y SBr-IF incluidos en [www.crediblemeds.org](http://www.crediblemeds.org) y [www.bugadadrugs.org](http://www.bugadadrugs.org).

La asociación de fármacos de ambos grupos terapéuticos con eventos arritmogénicos está ampliamente reportada en la literatura. Ya en 1991, Mehtonen *et al.* reportaron 49 casos de muerte súbita asociada a antidepresivos y antipsicóticos [345]. Dentro de los antidepresivos, Jasiak y Bostwick reportaron un mayor riesgo de TdP asociado a los inhibidores selectivos de recaptación de serotonina (ISRS) que incluían citalopram, escitalopram, fluoxetina, paroxetina o sertralina, comparado con el riesgo asociado a los antidepresivos tricíclicos (ATC) [346]; apuntaban, además, un incremento marcado del riesgo de MSC con aumento de dosis en ISRS.

En cuanto a los antipsicóticos, tanto los de primera como los de segunda generación (antipsicóticos típicos y atípicos, respectivamente) se han relacionado con prolongación de QT (Tabla 14) [347]–[350]. Los antipsicóticos fenotiazínicos (típicos) son los más conocidos por su capacidad de prolongar el QT y aumentar el riesgo de TdP. Mediante un estudio observacional retrospectivo que incluía medio millón de pacientes, Ray *et al.* observaron que el riesgo de muerte súbita era 2.39 veces mayor en pacientes con antipsicóticos típicos que en pacientes sin esta medicación, sugiriendo que se tendría que tener en cuenta en la práctica clínica una posible cardiotoxicidad relacionada con estos medicamentos [33]. Liperoti *et al.* observaron también un mayor riesgo de arritmias ventriculares y paros cardiacos en pacientes con antipsicóticos típicos, sobre todo en pacientes con patologías cardiacas previas [351].

Tabla 14. Fármacos antidepresivos y antipsicóticos con riesgo conocido de *Torsades de Pointes*

Riesgo conocido de <i>Torsades de Pointes</i>		
Antipsicóticos		Antidepresivos
Clorpromazina	Mesoridazina	Citalopram
Clorprotixeno	Pimozida	Escitalopram
Droperidol	Sulpirida	
Haloperidol	Sultopride	
Levomepromazina	Tioridazina	
Levosulpirida		

Adaptado de [www.crediblemeds.org](http://www.crediblemeds.org) (fecha de acceso 25/09/2020).

El patrón de repolarización tipo 1 inducido por fármacos ocurre mayoritariamente en hombres, principalmente en casos de sobredosis, con ATC, fluoxetina o litio, entre otros, o como consecuencia de interacciones entre fármacos, por ejemplo amitriptilina y fenotiazina o trifluoperazina y loxapina [341], [352]–[354]. En la Tabla 15 se muestran los fármacos antipsicóticos y antidepresivos listados como fármacos proarrítmicos o inductores de SBr.

Se han publicado varios estudios que señalan el aumento de mortalidad en pacientes con SBr-IF. En un estudio que incluía 98 pacientes con sobredosis de ATC, el 15% de los pacientes desarrolló un patrón de ECG compatible con SBr, con una mortalidad de un 6,7% [341]. En otra serie de 74 pacientes estudiada por Konigstein *et al.* en 2016, la mortalidad alcanzó el 13% en pacientes con SBr-IF, jugando un papel importante la edad y la vía de administración [355]. En la mayoría de los casos, el fenotipo desapareció al retirar el fármaco responsable.

Puesto que muchos pacientes que toman antidepresivos y antipsicóticos están polimedicados, es importante conocer que la asociación de dos o más fármacos que prolongan el QT aumenta el riesgo de cardiotoxicidad. Se han reportado arritmias severas, TdP y parada cardíaca ante asociaciones de estos medicamentos con antiarrítmicos, algunos antihistamínicos, metadona, eritromicina, etc [356]–[358]. Estas interacciones farmacológicas son específicas de fármaco, pero pueden darse también condiciones específicas en el paciente que alteren la respuesta al fármaco y aumenten el riesgo proarrítmico, como la edad, antecedentes familiares de prolongación de QT, SQTl subclínico, desequilibrio electrolítico, presencia de determinadas patologías, factores genéticos, etc. (Tabla 13) [276], [355], [359], [360].

La respuesta a fármacos depende, por tanto, de factores clínicos, genéticos y ambientales, pero, así como las variables clínicas o ambientales (condiciones fisiológicas, patológicas, dieta) pueden variar, el perfil genético del individuo permanece estable a lo largo de la vida. Conocer las variantes genéticas implicadas en la variabilidad de respuesta al fármaco nos permitirá inferir, previo tratamiento, cómo va a responder cada paciente a un fármaco determinado.

Tabla 15. Fármacos antidepresivos y antipsicóticos proarrítmicos en síndrome de Brugada

	Fármacos que deben evitarse en síndrome de Brugada por su riesgo proarrítmico	Fármacos asociados con síndrome de Brugada-IF
Antipsicóticos	Loxapina Trifluoperazina	Clotiapine Ciamemazine Perfenazina Tioridazina
Antidepresivos	Amitriptilina Clomipramina Desipramina Litio Nortriptilina	Bupropión Dosulepina Doxepina Fluoxetina Fluvoxamina Imipramina Maprotilina Paroxetina

Adaptado de [www.brugadadrugs.org](http://www.brugadadrugs.org) (fecha de acceso 25/09/2020).

#### 4.2 Farmacogenética de las proarritmias. Bases genéticas y moleculares de síndrome de QT largo y síndrome de Brugada inducidos por fármacos.

Las interacciones de los genes con factores ambientales provocan que muchos pacientes no respondan adecuadamente a un tratamiento farmacológico, bien porque el fármaco no consigue la respuesta esperada, o bien por la aparición de toxicidad asociada al tratamiento. Se conocen una multitud de factores que influyen en la variabilidad de respuesta a fármacos, además de los factores genéticos, como: la edad, la dieta, hábito tabáquico, interacciones farmacológicas, otras patologías, como las patologías renales y hepáticas, etc.

La farmacogenética estudia las diferencias interindividuales en el ADN que pueden explicar la variabilidad en la respuesta a los fármacos [361]. La farmacogenómica es un término más amplio que se define como el estudio de la variación en el ADN y el ARN relacionada con la respuesta a fármacos. El objetivo de ambas es adecuar el tratamiento a cada individuo para conseguir el efecto apropiado con la mínima toxicidad. De acuerdo con la Agencia Europea del Medicamento (EMA), un biomarcador genómico es aquella característica medible en el ADN o ARN indicadora de procesos biológicos normales, patológicos y/o respuesta a una terapia u otra intervención [361]. El descubrimiento de nuevos biomarcadores genómicos (función, expresión y regulación de un determinado gen) nos ayudará a disponer de fármacos más seguros y efectivos, a adecuar la dosis a un paciente determinado y a mejorar el perfil beneficio-riesgo. Resultan, por tanto, herramientas útiles para anticiparse y prevenir eventos inesperados.

La farmacogenética es especialmente interesante cuando se aplica a fármacos con estrecha ventana terapéutica, como antidepresivos o antipsicóticos, siendo la ventana terapéutica el rango de dosis efectiva en la cual un fármaco es eficaz, de forma que, por debajo del límite inferior, el fármaco es ineficaz y por encima del límite superior, es frecuente la aparición de eventos adversos.

Los factores genéticos que pueden alterar la variabilidad de la respuesta a fármacos afectan, principalmente, a las vías farmacodinámica y farmacocinética del fármaco (Ilustración 10) [362]. Sin embargo, aún no se conoce en qué medida la predisposición genética contribuye en la arritmogénesis inducida por fármacos.

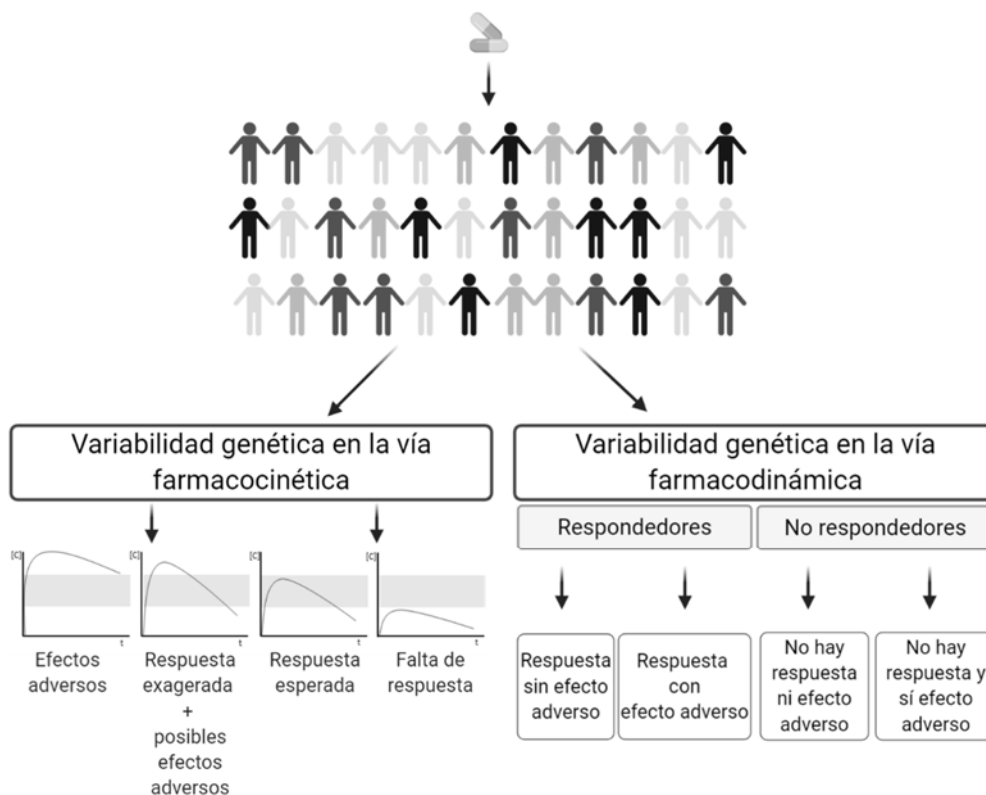


Ilustración 10. Variabilidad genética en la respuesta a fármacos.  $[C]$ : concentración plasmática del fármaco;  $t$ : tiempo.

#### 4.2.1 Factores genéticos que influyen en la vía farmacodinámica

La farmacodinamia estudia la acción de los fármacos sobre la diana, su efecto, la consecuencia visible de dicha acción y su mecanismo de acción a nivel molecular. La mayoría de los fármacos actúan sobre dianas terapéuticas primarias, moléculas endógenas con las que interaccionan y mediante las cuales llevan a cabo su acción. Estas moléculas endógenas pueden ser: enzimas, moléculas transportadoras, canales iónicos o receptores. En el contexto de eventos arritmogénicos inducidos por medicamentos, el mecanismo más ampliamente aceptado para explicar cómo los fármacos producen proarritmia es la modulación de las corrientes iónicas cardíacas, principalmente  $I_{Na}$ ,  $I_{Ca}$  e  $I_K$  [276].

##### 4.2.1.1 Síndrome de QT largo inducido por fármacos (SQTl-IF)

La diana molecular más común en la mayoría de los casos de SQTl-IF es el canal hERG/Kv11.1. Este mecanismo ha sido uno de los más estudiados en SQTl-IF por su

asociación con el SQTl congénito. También otras corrientes iónicas importantes, como  $I_{Na}$ ,  $I_{Ca}$  e  $I_{Ks}$ , pueden ser moduladas por los fármacos e inducir STQL-IF [244], [363], [364].

Gran parte de los fármacos que prolongan el intervalo QT bloquean la corriente  $I_{Kr}$  [365]. Este bloqueo de  $I_{Kr}$  pueden realizarlo de forma directa (la mayoría) o indirecta. En el bloqueo directo de  $I_{Kr}$ , el fármaco se une a la cavidad central hidrofóbica de Kv11.1 en estado abierto y evita la permeabilización del potasio, impidiendo el paso de los iones a través del canal; en el bloqueo indirecto, el fármaco altera el tráfico de las proteínas del canal desde el retículo endoplásmico a la membrana celular, reduciendo el número de canales activos en la membrana [366][367]. Ambos mecanismos reducen la entrada de iones de potasio en el interior celular y aumentan la duración del potencial de acción, alargando la fase de repolarización y, por tanto, el intervalo QT. Esto puede dar lugar a PPP, arritmias y muerte súbita cardíaca.

La mayoría de los antidepresivos producen un bloqueo mixto de canales, es decir, inhiben tanto las corrientes de salida ( $I_{Kr}$ ) como de entrada ( $I_{Na}$  e  $I_{Ca}$ ) (Tabla 16). La inhibición de  $I_{Na}$  e  $I_{Ca}$  limita los efectos inhibitorios de  $I_{Kr}$  para prolongar el QT, por lo que cuando un fármaco bloquea las tres corrientes a la vez, baja la correlación entre el grado de inhibición de  $I_{Kr}$  y la prolongación de QT. Los antipsicóticos, producen más inhibición de las corrientes de salida  $I_{Kr}$  que los antidepresivos y por ello suelen asociar más frecuentemente SQTl-IF [368], [369]. Algunos estudios sugieren la participación concomitante del canal NaV1.5 como modulador del QTc cuando los antipsicóticos bloquean  $I_{Kr}$  [370].

Tabla 16. Efecto de antidepresivos y antipsicóticos sobre las corrientes iónicas  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ca}$ ,  $I_{Na}$

		$I_{Kr}$	$I_{Ca}$	$I_{Na}$
<b>Antidepresivos</b>	Amitriptilina	x	x	x
	Imipramina	x	x	x
	Fluoxetina	x	x	
	Citalopram	x		
<b>Antipsicóticos</b>	Clorpromazina	x		
	Clozapina	x		
	Haloperidol	x		
	Sertindol	x		
	Tioridazina	x		

Adaptado de Sicouri y Antzelevich, 2018 [276].

Sin embargo, los fármacos que bloquean esos canales no producen proarritmia en todos los pacientes. En este sentido, se han reportado en la literatura portadores de mutaciones patogénicas en genes de los canales iónicos que son asintomáticos hasta que, en presencia de determinados fármacos, desarrollan SQTl o TdP [371], [372]. Estos hallazgos se podrían explicar con el concepto de “reserva de repolarización” mediante el cual se propone que se necesitan múltiples factores de riesgo para alterar los mecanismos compensatorios (de reserva o redundancia) que mantienen una repolarización ventricular normal [320]. Esta reserva de repolarización puede estar disminuida por variantes genéticas raras o comunes que inducen una alteración subclínica de la repolarización. Pero, en presencia de un factor externo, como un

fármaco o hipopotasemia, se desenmascararía el fenotipo e, incluso, causaría una prolongación exagerada del intervalo QT, arritmias y TdP [363], [373]. Varios estudios demuestran que una parte significativa de la reserva de repolarización en individuos aparentemente sanos tiene base genética y proponen el SQTl congénito subclínico como factor de riesgo en eventos TdP-IF [374], [375]. Además, se estima que aproximadamente el 35% de la duración del intervalo QT es heredado y que, familiares de pacientes con diagnóstico de SQTl congénito tienen mayor riesgo de manifestar SQTl-IF. También Kannankeril *et al.*, 2005 evidenciaron la base genética del SQTl-IF [376]; sus resultados mostraron que familiares de primer grado de pacientes que habían sufrido SQTl-IF mostraban mayor prolongación del intervalo QT que familiares de pacientes que no habían mostrado SQTl-IF con la administración de antiarrítmicos durante un periodo largo de tiempo [377], [378].

El diseño de los estudios publicados para abordar la susceptibilidad genética en la vía farmacodinámica es muy heterogéneo. La mayoría se basa en el estudio de genes candidatos, principalmente en genes de SQTl congénito, genes que codifican canales que intervienen en la repolarización y despolarización cardiacas o genes previamente identificados en GWAS posiblemente asociados con prolongación del QT inducida por fármacos [372], [379]–[381]. Aunque los resultados de las primeras investigaciones sobre la base genética de SQTl-IF señalaban *KCNH2* por su papel en la repolarización regulando  $I_{Kr}$ , hasta ahora no se ha encontrado una asociación consistente con un gen concreto [381]–[383]. Otras investigaciones han identificado variantes genéticas raras en genes que codifican proteínas de los canales iónicos en hasta un 10 – 15% de los pacientes con TdP-IF y variantes de efecto moderado o polimorfismos que podrían contribuir modestamente a la prolongación del QT con efecto acumulativo, como K897T en *KCNH2*, T8A en *KCNE2*, S1103Y en *SCN5A* o D85N en *KCNE1* [379]–[381], [384]–[387]. Strauss *et al.* demostraban, recientemente, que un conjunto de 61 SNPs previamente asociados con el intervalo QT explicaban hasta un 27% de la variabilidad del intervalo QT; estos SNPs, además, se correlacionaban con la prolongación de QT inducida por fármacos y, según los autores, representaban un importante predictor de TdP-IF [375]. En esta misma línea, Lahrouchi *et al.*, en 2020, concluyen que aproximadamente el 15% de la variabilidad en la predisposición a SQTl vendría dada por variantes comunes, pero con mayor efecto en pacientes con SQTl sin mutaciones en los genes: *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *CALM1-3* y *TRDN*, y replican la asociación del cambio D85N en *KCNE1* como variante de susceptibilidad en SQTl en la población general [229]. También se han descrito variantes en el gen *NOS1AP*, asociadas con SQTl-IF [388]; este gen codifica una proteína citosólica (proteína adaptadora de óxido nítrico sintasa 1) que participa en la homeostasis del calcio y la contracción cardíaca. nNOS inhibe los canales de calcio *L-type* implicados en la repolarización y propagación del impulso cardíaco [389]; según los resultados de varios estudios, el gen *NOS1AP* está relacionado con la duración del intervalo QT [390], [391]. La asociación de este gen con prolongación del QT inducida por fármacos ha sido replicada en otros estudios [392]. De nuevo el gen *KCNE1* se replicaba en un estudio de exoma completo llevado a cabo por Weeke *et al.* En este caso, investigaron 65 casos y 148 controles y demostraron la implicación de *KCNE1* y *ACN9* en la prolongación del intervalo QT inducido por antipsicóticos y antiarrítmicos. Señalan, además, que múltiples variantes raras en genes de SQTl congénito en un mismo paciente aumentaría la susceptibilidad de sufrir SQTl-IF [383].

Otro tipo de aproximación para abordar el estudio de la predisposición genética a sufrir SQTl-IF son los estudios GWAS, que se utilizan para buscar variantes comunes de pequeño efecto en grandes cohortes. Los resultados de este tipo de estudios que se han realizado hasta ahora son heterogéneos y señalan genes con funciones muy diversas, la mayoría relacionadas con el miocardio, por ejemplo: en la prolongación de QT por iloperidona, los genes *SLCO3A1*



(transportador), *NUBPL* (implicado en el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial), *NRG3* (neuregulina 3, implicada en la embriogénesis del desarrollo cardíaco, entre otros tejidos) o *PALLD* (participa en la organización del citoesqueleto de actina), entre otros; el gen *SLC22A23* (transportador) en SQTIL inducido por quetiapina, etc [392], [393]. En cambio, el trabajo de Behr *et al.* no encontró asociaciones que alcanzaran significancia estadística en 216 casos de SQTIL-IF y 771 controles [394].

#### 4.2.1.2 Síndrome de Brugada inducido por fármacos (SBr-IF)

La disminución de las corrientes  $I_{Na}$  e  $I_{Ca}$  y el aumento de  $I_{to}$  son los mecanismos más comunes que conducen a la arritmogénesis en SBr-IF [395]. En consecuencia, los fármacos asociados con SBr-IF se podrían agrupar en tres grupos según el mecanismo por el cual inducen el fenotipo:

- Fármacos que bloquean los canales de sodio ( $I_{Na}$ ): algunos autores defienden la hipótesis de que estos fármacos pueden provocar o exagerar la elevación del segmento ST de la precordial derecha reduciendo la corriente de sodio, ya de por sí afectada por variantes en el gen *SCN5A*, que codifica el canal Nav1.5. Los ATC, como la amitriptilina, desipramina o imipramina, y antidepresivos tetracíclicos actúan bloqueando el canal de sodio; también ISRS (citalopram, fluvoxamina, paroxetina o fluoxetina) y neurolépticos como las fenotiazinas (clorpromazina, haloperidol, loxapina, etc.) [276], [396]; otros fármacos como litio, antihistamínicos, anestésicos, antiepilépticos, antiarrítmicos (propafenona, ajmalina, flecainida...) o drogas de abuso como la cocaína, el alcohol o el cannabis se asocian también al SBr-IF mediante el bloqueo de los canales de sodio [396].
- Fármacos que bloquean los canales de calcio ( $I_{Ca}$ ):  $I_{Ca}$  es esencial en la formación del domo del potencial de acción. Los fármacos que bloquean esta corriente y los fármacos  $\beta$ -bloqueantes (propranolol) desenmascaran el fenotipo de SBr disminuyendo las corrientes  $I_{Ca-Ltype}$ . Algunos ejemplos son: los nitratos, la trifluoperazina, la terfenadina, la fluoxetina o el alcohol [395].
- Fármacos que abren el canal de potasio: estos fármacos aumentan las corrientes de salida  $I_{K,ATP}$ ,  $I_{to}$  e  $I_{Kr}$ , lo que puede causar la pérdida del domo del potencial de acción. Pinacidil y nicorandil son dos fármacos que pertenecen a este grupo [396].

En SBr-IF las variantes genéticas en genes asociados con SBr congénito podrían contribuir a la aparición de este fenotipo, aunque la evidencia publicada es limitada [397]. En 2002, Splawski *et al.* propusieron la variante S1103Y en el gen *SCN5A*, presente en un 13–19% de la población afroamericana, como un marcador de susceptibilidad a arritmias en presencia de otros factores de riesgo como fármacos o hipopotasemia [398]. Bezzina *et al.* estudiaron un haplotipo formado por seis SNPs en el gen *SCN5A* como modulador del riesgo de arritmia que explicaría hasta un 48% de la variabilidad de la respuesta a fármacos que bloquean el canal de sodio; este haplotipo tenía una frecuencia alélica del 22% en población asiática, pero estaba ausente en otras poblaciones [397]. Recientemente, se identificó la variante p.V1328M en el gen *SCN5A* en un paciente con SBr inducido por pilsicainida, fármaco antiarrítmico capaz de bloquear los canales de sodio; los autores demostraron mediante estudios electrofisiológicos *in vitro* que esta variante aumentaba el efecto del fármaco sobre la corriente de sodio, concluyendo que variantes en el gen *SCN5A* podrían tener un efecto subclínico que predispone a ciertas personas a sufrir SBr adquirido [399].

#### 4.2.2 Factores genéticos que influyen en la vía farmacocinética.

La farmacocinética estudia la evolución temporal del fármaco en el organismo. Se divide en varios procesos conocidos con el acrónimo LADME: liberación (L) de la sustancia activa, su absorción (A) para alcanzar la circulación sanguínea; distribución (D) por la sangre para acceder a los órganos y los tejidos diana; metabolismo (M), para su biotransformación en una forma química distinta y así facilitar su eliminación; y, por último, excreción (E), mediante la cual el fármaco o sus metabolitos son eliminados del organismo. La Ilustración 11 esquematiza los procesos de LADME.

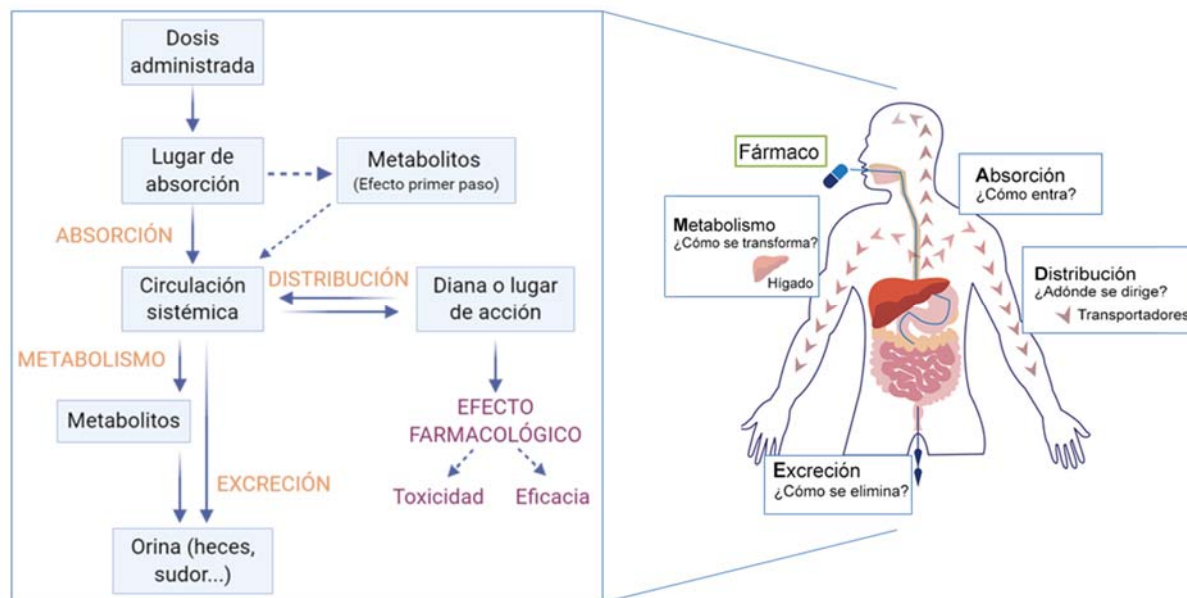


Ilustración 11. Procesos de la vía farmacocinética. Esquema de los procesos básicos de ADME. Adaptada de [www.eupati.com](http://www.eupati.com).

La concentración de un fármaco en el lugar de acción depende de las fases ADME. Sin embargo, los factores que alteran la eliminación (M + E) son la causa principal de la variabilidad individual en la respuesta a un fármaco y condicionan la elección del fármaco adecuado y su ajuste de dosis. Concretamente, las diferencias en el metabolismo son las que más contribuyen a que la misma dosis dé diferentes concentraciones plasmáticas del fármaco en diferentes individuos [400]. El metabolismo es la biotransformación de un fármaco en otra forma química o metabolito mediante conversión enzimática para facilitar su eliminación. La mayoría de los fármacos se metabolizan a metabolitos activos o inactivos, pero este paso puede dar lugar también a la activación de un profármaco o la modificación de la acción o toxicidad. Además, algunos fármacos sufren metabolismo de primer paso, es decir, parte del fármaco se metaboliza y se elimina antes de llegar a la circulación sistémica para llevar a cabo su acción (Ilustración 11). Factores como el hábito tabáquico, la edad, la dieta, las patologías hepáticas, coadministración de otros fármacos o las alteraciones genéticas pueden modificar el metabolismo. [400].

Las reacciones de biotransformación tienen lugar en dos fases: I y II.

- Reacciones de fase I: son reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis que aumentan la polaridad de la molécula; pueden producir su desactivación, cambiar su acción, dar un metabolito activo con actividad farmacológica o producir toxicidad.



- Reacciones de fase II: eliminan la actividad farmacológica (con alguna excepción) mediante conjugación con sustratos endógenos para aumentar el tamaño de la molécula, convertirlos en derivados hidrofílicos y facilitar su excreción.

El citocromo P450 (CYP, por sus siglas en inglés *Cytochrome P450*) es un complejo enzimático encargado de la biosíntesis y metabolismo de compuestos endógenos; es el principal responsable del metabolismo de fase I (principalmente reacciones de oxidación) de los xenobióticos (compuesto químico que no forma parte de la composición del organismo). Se trata de una superfamilia de hemoproteínas que se encuentran fundamentalmente en hígado e intestino y en menor proporción en otros órganos (riñón, pulmones, piel...) (Ilustración 12). Intervienen en el metabolismo de hasta un 80% de los fármacos usados en clínica [401]. Su expresión está regulada por factores fisiopatológicos, genéticos y ambientales, como: edad, sexo, hormonas, polimorfismos genéticos, interacciones entre fármacos, determinadas enfermedades, etc [402], [403]. Estas enzimas son polimórficas y poco específicas puesto que actúan sobre muchos sustratos e intervienen en muchas reacciones. Este hecho facilita que ocurran interacciones entre los compuestos que metabolizan, como fármacos o incluso elementos de la dieta, como la conocida interacción con el zumo de pomelo. Estas interacciones pueden inducir una reacción enzimática o inhibirla (la mayoría por inhibición competitiva con otro compuesto), alterando el metabolismo de un fármaco y, por tanto, sus concentraciones plasmáticas. Si se induce la reacción enzimática, la velocidad de metabolización aumenta, el compuesto permanece menos tiempo en la sangre y el efecto es menor del esperado o menos duradero [400]. Si se inhibe la reacción: disminuye la velocidad de metabolización, el compuesto permanece más tiempo en el torrente sanguíneo, se acumula, aumenta su exposición y el riesgo de toxicidad y de reacciones adversas graves. También puede ocurrir que un fármaco inactivo (profármaco) se convierta en un producto activo mediante la biotransformación que ocurre durante el metabolismo. En estos casos y en casos de fármacos con metabolitos activos, puede haber una pérdida de eficacia si existe inhibición enzimática [400].

Muchos pacientes con alteraciones neuropsiquiátricas o pacientes de edad avanzada están polimedcados, lo que incrementa el riesgo de interacciones farmacológicas y reacciones adversas. Con el agravante de que algunos fármacos presentan márgenes estrechos de seguridad como, por ejemplo, los ATC y algunos antipsicóticos [356], [404]. Ese hecho es importante, sobre todo, cuando el riesgo de TdP-IF es dependiente de dosis. Por ejemplo, la coadministración de ATC y fluoxetina o paroxetina, fuertes inhibidores de CYP2D6, podría aumentar los niveles plasmáticos de los ATC, cuya vía de metabolización predominante es CYP2D6, y dar lugar a prolongación del QT o TdP [405]–[407]. Por ello, los mecanismos (genéticos o no) que contribuyan a aumentar las concentraciones de fármaco en plasma podrán ser factores de riesgo de TdP-IF.

La investigación de la variación genética en el metabolismo de los fármacos se ha enfocado, en gran parte, en las enzimas CYP que componen el citocromo P-450 (Ilustración 12) ya que las variantes alélicas que tienen estas enzimas pueden determinar su actividad metabólica. Dependiendo de la actividad de la enzima y el proceso en el que actúe el CYP, habrá una menor respuesta a fármaco o a un mayor riesgo de toxicidad. La capacidad metabólica de un CYP o fenotipo metabolizador, a su vez, puede ser modificado por factores como fármacos (inhibidores, por ejemplo) o enfermedades; a este fenómeno se le ha denominado fenocversión y puede dar situaciones en las que, por ejemplo, un paciente con un genotipo compatible con fenotipo metabolizador normal para CYP2D6 manifieste un fenotipo de metabolizador pobre [401]. Por ello, en la práctica, el genotipo no siempre se correlaciona bien con el fenotipo [408]–[410].

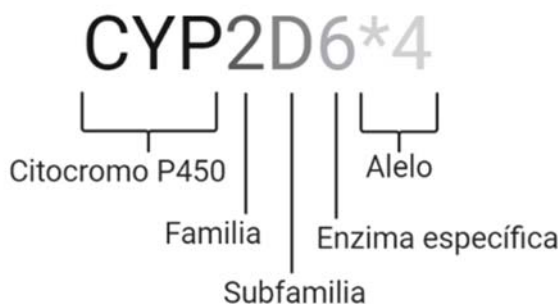


Ilustración 12. Nomenclatura de las enzimas que componen el citocromo P-450. La nomenclatura de estas enzimas se basa en su secuencia de aminoácidos, de forma que: comienzan con las siglas CYP, seguidas de un número que indica la familia, una letra que identifica la subfamilia y otro número que designa el gen, por ejemplo: *CYP2C19* o *CYP2D6*. Pertenecen a una misma familia las enzimas con una homología en la secuencia de aminoácidos mayor del 40% y a una misma subfamilia aquellas cuya secuencia de aminoácidos tiene una similitud mayor del 55%. Dentro de cada subfamilia, son enzimas individuales aquellas cuyas secuencias difieran más de un 3%. Además, cada enzima puede tener variantes alélicas identificadas con un asterisco, según los criterios establecidos por Pharmacogene Variation (PharmVar) Consortium (<https://www.pharmvar.org/>), que recoge todas las variantes conocidas de los CYP. Con este sistema se agrupan haplotipos y sus subvariantes o subalelos en función de los cambios en la secuencia nucleotídica o cambios estructurales [411].

#### 4.2.2.1 CYP relacionados con la prolongación del intervalo QT inducida por antipsicóticos y antidepresivos

Un gran número de fármacos asociados con SQTl-IF, TdP-IF y SBr-IF son metabolizados por los CYP, entre otros, prácticamente todos los antidepresivos y antipsicóticos [412]. Con relación a la prolongación del QT inducida por fármacos los CYP más estudiados son CYP2D6 y CYP2C19.

El CYP2D6 fue la primera enzima metabolizadora documentada como polimórfica en 1977 [413]. Se expresa principalmente en el hígado y en menor proporción en otros tejidos extrahepáticos, como el cerebro, el riñón o intestino [414]. Aunque solo representa del 2 al 6% del contenido de CYP hepáticos total, es una de las enzimas más importantes en el metabolismo de la fase I ya que cataliza un gran número de reacciones metabólicas y está involucrada en el metabolismo de aproximadamente un 20% de los medicamentos aprobados Tabla 17 [413], [415], [416]. Por ello y por la gran variabilidad interindividual de su actividad metabólica, es una de las enzimas más estudiadas en relación con la respuesta a fármacos. Esta enzima participa, además, en el metabolismo de un gran número de fármacos relevantes en la práctica clínica tanto por su frecuencia de uso como por sus efectos terapéuticos y/o reacciones adversas, como  $\beta$ -bloqueantes, opiáceos, antidepresivos, antipsicóticos, etc [417]. Su actividad puede ser inhibida, principalmente por otros fármacos, como la fluoxetina, la paroxetina o el bupropión, sin embargo, los inductores tienen poco impacto sobre su actividad [418]. El gen *CYP2D6* se encuentra en la región 22q13 del cromosoma 22, está formado por nueve exones y se han descrito dos pseudogenes, *CYP2D7* y *CYP2D8*, con los que comparte más de un 90% de homología de secuencia [419]. Se trata de un gen altamente polimórfico en el que se han descrito, hasta ahora, más de 140 variantes alélicas [411]. La manera más exacta de conocer el fenotipo metabólico de una enzima es medir *in vivo* su actividad metabólica en un momento determinado [410]. Sin embargo, la actividad enzimática de CYP2D6 puede estimarse según la combinación de los alelos que presente el gen *CYP2D6*. Se han descrito cuatro fenotipos según la capacidad metabolizadora: metabolizadores pobres (PM), intermedios (IM), normales (NM)

y ultrarrápidos (UM) (por sus siglas en inglés: *poor*, *intermediate*, *extensive* y *ultrarapid metabolizers*, respectivamente) (Ilustración 13) [417]:

- Fenotipo PM: la capacidad metabólica de la enzima es muy baja, prácticamente nula, por lo que se acumularán altas concentraciones del fármaco y será más frecuente la aparición de efectos adversos.
- Fenotipo IM: la capacidad metabólica está reducida, por lo que las concentraciones del fármaco serán ligeramente superiores; esto puede dar lugar a una respuesta terapéutica exagerada y mayor probabilidad de efectos adversos.
- Fenotipo NM: la actividad metabólica se considera normal, por lo que se esperan concentraciones terapéuticas del fármaco y una adecuada respuesta al tratamiento.
- Fenotipo UM: la actividad metabólica de la enzima es alta (mayor que el fenotipo NM), lo que dará lugar a concentraciones infraterapéuticas y poca o ninguna respuesta al fármaco.

La extrapolación de genotipo a fenotipo viene esquematizada en la Ilustración 13 [420].

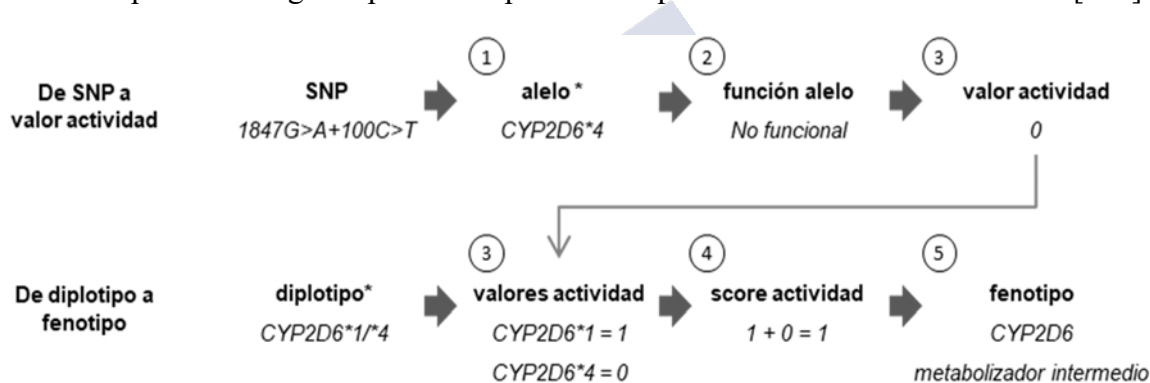


Ilustración 13. Esquema del paso de genotipo a fenotipo de CYP2D6. 1) Definir qué variantes hay en un alelo; 2) asignar la función al alelo (normal, incrementada, disminuida o sin función); 3) asignar un valor de actividad a cada alelo: no tiene función=0; función disminuida=0.5, función normal=1; en caso de CNV, el valor de actividad del alelo se multiplica por su número de copias; 4) establecer un score de actividad o AS (del inglés, *activity score*), suma de los valores de actividad; 5) inferir el fenotipo según dicho score. Las personas con AS = 0 son PM, AS = 0 < x < 1.25 son IM, AS = 1.25 ≤ x ≤ 2.25 son NM y AS > 2.25 son UM. Estos valores para inferir el fenotipo de CYP2D6 se han publicado recientemente por Caudle *et al.*, 2020 como un consenso entre CPIC (<https://cpicpgx.org/>) y DPWG (<http://upgx.eu/guidelines/>) con el objetivo de estandarizar el paso de genotipo de CYP2D6 a fenotipo y evitar discordancias entre laboratorios [420].

La frecuencia de los fenotipos metabólicos de CYP2D6 presenta variabilidad interétnica. Según un estudio reciente llevado a cabo por Gaedigk *et al.* la mayor frecuencia de fenotipos PM extrapolados a partir del genotipo de CYP2D6 se detecta en población europea (5,4%) y judía Ashkenazi (6%), mientras que en el caso de UM se detecta mayor frecuencia en Oceanía (21,2%) y en población judía Ashkenazi (11,2%). Estas frecuencias aumentan, sin embargo, si se comparan con los estudios fenotípicos *in vivo* ya que la predicción del fenotipo a partir del genotipo depende en gran medida de las variantes alélicas presentes en una población y los alelos estudiados [410].

La variación genética de CYP2D6 se ha asociado con prolongación de QT en pacientes que tomaban risperidona e iloperidona, sin embargo, no se asoció con haloperidol y los resultados con tioridazina son contradictorios [421]–[426]. La pimozida (antipsicótico), vortioxetina (antidepresivo) o aripipazol (antipsicótico) son ejemplos de fármacos con ajuste de dosis en pacientes PM para CYP2D6 [427], [428]. Un estudio con paroxetina y dextrometorfano

concluyó que la magnitud de las interacciones entre ambos es diferente en individuos NM homocigotos de alelos funcionales y heterocigotos de variante funcional y variante no funcional. Estos resultados sugieren que individuos NM para *CYP2D6* pueden no representar una población homogénea ante las interacciones entre fármacos, dando importancia a conocer el genotipo además del fenotipo en la rutina clínica [407].

Tabla 17. Antidepresivos y antipsicóticos metabolizados por CYP2C19 y CYP2D6.

	Antipsicóticos	Antidepresivos
<b>CYP2D6</b>	Aripiprazol Clozapina Haloperidol Olanzapina Perfenazina Pimozida Risperidona Tioridazina Zuclopentixol	Amitriptilina Clomipramina Desipramina Fluoxetina Nortriptilina Paroxetina Trazodona Venlafaxina Imipramina
<b>CYP2C19</b>	Clozapina	Amitriptilina Citalopram Clomipramina Doxepina Escitalopram Imipramina Sertraline Trimipramina

CYP2C19 es una enzima que se expresa principalmente en el hígado [429]. Esta enzima tiene también gran relevancia clínica ya que metaboliza en torno a un 7% de fármacos utilizados habitualmente en clínica, como inhibidores de la bomba de protones, antidepresivos, antiplaquetarios, anticoagulantes, etc [401]. El gen *CYP2C19*, que codifica esta enzima, se encuentra en la región q23.33 del cromosoma 10 y, como en el caso del CYP2D6, está compuesto por nueve exones y es altamente polimórfico [430]. Hasta ahora se han descrito más de 30 variantes alélicas en función de distintas combinaciones de SNPs [411]. Como en el caso de CYP2D6, el estudio de las variantes alélicas del gen *CYP2C19* se está utilizando ampliamente para medir indirectamente la capacidad metabólica de la enzima CYP2C19. La asignación de fenotipo en base a su genotipo se basa también en la funcionalidad de los alelos, asignando una puntuación a cada alelo, de manera similar a CYP2D6, describiéndose también: PM, IM, NM, RM y UM [411], [431], [432]. La actividad enzimática de CYP2C19 puede verse inhibida por otros fármacos como fluconazol, fluoxetina y fluvoxamina o inducida por efavirenz y rifampicina [430].

CYP2C19 y CYP2D6 son metabolizadores principales de los ISRS, fármacos de uso frecuente para el tratamiento de la depresión. La serotonina, el citalopram y el escitalopram, relacionados con prolongación del QT son metabolizados por CYP2C19, cuyo genotipo se ha

descrito que puede influir en su eficacia y toxicidad [433]–[435]. En este sentido, Cui *et al.* realizaron en 2018 un estudio en ratones cuyos resultados sugieren que la serotonina plasmática podría tener un papel importante en la repolarización cardíaca y, por tanto, en la prolongación del intervalo QT [434], [436]. Por otro lado, la FDA (*Food and Drug Administration*) y la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) recomiendan una dosis máxima de 20mg/día de citalopram en pacientes PM para CYP2C19 (la máxima indicada para NM es de 40mg/día) o en tratamiento con inhibidores de CYP2C19, por el riesgo de prolongación de QT dependiente de dosis [437], [438]. El estudio retrospectivo de Kumar *et al.* en 2014 de una cohorte de 155 pacientes con citalopram o escitalopram mostró, en cambio, mayor riesgo de prolongación del QT no dependiente de dosis en pacientes IM o PM de CYP2C19 con citalopram frente a NM, que tenían intervalos QT más cortos. Sin embargo, la cohorte incluía un solo PM y la asociación con IM frente a NM no resultó significativa [439]. El fenotipo PM para CYP2C19 también ha sido descrito como factor de riesgo asociado a cardiotoxicidad inducida por sertralina [440].

En la literatura se ven resultados contradictorios en cuanto a la utilidad de CYP2C19 y CYP2D6 como biomarcadores para predecir la respuesta o las reacciones adversas y mejorar el tratamiento con antidepresivos. Solomon *et al.*, en su revisión de 2019, señalan que los resultados hasta el momento son inconsistentes y que, entre otras razones, puede deberse al pequeño tamaño de muestra, a lo heterogéneos que son los diseños o a que no se han tenido en cuenta factores como la medicación concomitante [441]. Gaedigk *et al.* sugiere que la presencia de variantes raras en los CYP puede influir en el fenotipo metabolizador, sin embargo, no se tienen en cuenta en la mayoría de los trabajos [410].

Otros CYP relevantes estudiados con relación a la prolongación del QT son CYP3A4 y CYP2C9. El CYP3A4 metaboliza más del 60% de los fármacos de clínicamente relevantes. Interviene en el metabolismo de dos de los psicofármacos más importantes: quetiapina y ziprasidona. La expresión de este CYP puede verse alterada por multitud de moléculas, lo que hace que, por el momento, su genotipo sea menos predictivo y menos útil para la práctica clínica [442], [443]. El genotipo de este CYP3A4 se ha relacionado con aumento de riesgo de prolongación de QT o TdP inducidos por determinados antibióticos [444]. El CYP2C9 se estima que participa en el metabolismo de un 15% de los fármacos metabolizados por el citocromo P-450, como acenocumarol, warfarina, fenitoína, losartán, antibióticos, sulfoníureas, antiinflamatorios, etc. Las variantes alélicas de este CYP se han asociado con un aumento de riesgo de prolongación de QT o TdP inducido por antibióticos (excepto quinolonas) y, recientemente, con un acortamiento del intervalo QT ante la exposición de sulfoníureas [445]. No se asoció, sin embargo, con prolongación de QT en pacientes con risperidona [446].

El CYP1A2 es también relevante en el metabolismo de antipsicóticos y antidepresivos. Esta enzima metaboliza fármacos usados habitualmente en la práctica clínica como omeprazol, rifampicina o carbamazepina, algunos antidepresivos como la fluoxetina, la fluvoxamina y los ATC. Además, es el principal responsable del metabolismo de la clozapina y la olanzapina. Recientemente una revisión sistemática de la evidencia del impacto de las variantes alélicas de este CYP sobre la farmacocinética de los antipsicóticos concluía que el genotipo de CYP1A2 no tendría implicaciones clínicas. El café o el tabaco son factores que tienen fuerte influencia sobre este CYP hasta llegar a enmascarar los efectos genéticos [447], [448]. Por todo esto, la evidencia obtenida hasta ahora no respalda su utilización en guías clínicas como biomarcador para el establecimiento o modificación de dosis.

El gen *ABCB1* (o *MDR1*) ha sido también investigado en la variabilidad de la respuesta a fármacos y prolongación de QT. Este gen codifica la glicoproteína-P (Gp-P), una bomba de



eflujo que expulsa los xenobióticos al exterior de la célula; actúa como un sistema de protección y su expresión puede alterar las concentraciones plasmáticas de algunos fármacos. Tres SNPs son los más estudiados en este gen como posibles modificadores de efecto: C1236T, G2677T y C3435T [449]–[451]. Un estudio con 66 pacientes con esquizofrenia mostró que los pacientes con el alelo T de C3435T presentaban un intervalo QT más largo que los homocigotos para el alelo C [449]. Otro estudio reciente en 77 pacientes con fármacos psicótropos investigó variantes previamente relacionadas con la duración o prolongación del QT y no encontró SNPs con significancia estadística, sin embargo señalan tres SNPs con  $p$  valor  $< 0.01$  en *KCNH2* (rs2072413), *NOS1AP* (rs12029454) y *ABCB1* (rs10808071) [452].

## 5. ABORDAJE GENÉTICO DE LA MUERTE SÚBITA CARDIACA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA Y FORENSE

Durante muchos años, el diagnóstico de las enfermedades se ha basado en el estudio clínico de los signos y síntomas presentes en cada paciente. Hoy en día, la evolución de las técnicas moleculares permite que conozcamos cada vez más la etiopatogenia de las enfermedades, sus bases genéticas y moleculares, abriendo el camino hacia una medicina personalizada. La medicina de precisión o medicina personalizada es una práctica emergente que basa el diagnóstico de la enfermedad, su tratamiento y la estrategia de prevención en el perfil genético de cada paciente. Se dice que su objetivo es conseguir “los tratamientos adecuados para los pacientes adecuados en el momento adecuado” (“*the right treatments to the right patients at the right time*”).

Uno de los grandes avances en la aplicación clínica de la medicina de precisión ha sido el desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva como herramienta para el estudio genético [453]. Mediante una sola prueba, estas técnicas permiten secuenciar grandes regiones del genoma en un corto periodo de tiempo. Esto es muy práctico para enfermedades como las cardiopatías familiares que, por su solapamiento clínico y genético, requieren el estudio de un número relativamente grande de genes. Como se desarrolla a continuación, la aplicación de la secuenciación masiva en este campo es de especial interés porque podemos hallar el origen genético de la enfermedad, algunas veces mejorar el pronóstico, el tratamiento y establecer estrategias de prevención de muerte súbita cardiaca, sobre todo de cara a familiares asintomáticos portadores.

La farmacogenética es otro de los pilares de la medicina personalizada ya que, conociendo las variantes alélicas presentes en un individuo, se puede inferir si un paciente responderá o no a un determinado fármaco, o si este paciente está más expuesto a sufrir determinadas reacciones adversas graves. En la actualidad, la farmacogenética cuenta con numerosos biomarcadores validados por las agencias reguladoras para tratamientos de distintas áreas terapéuticas, como reumatología, oncología, terapia antiviral, psiquiatría o cardiología. Sin embargo, su implementación en la práctica asistencial sigue siendo limitada.

A continuación, abordaremos de forma general las aplicaciones y los retos de la medicina personalizada en el estudio genético de las cardiopatías familiares con riesgo de muerte súbita cardiaca, así como la implementación de la farmacogenética en el estudio de las proarritmias en el ámbito asistencial.

### 5.1 Estudio genético de las cardiopatías familiares

En el abordaje de las cardiopatías familiares, el estudio clínico y genético está recomendado debido a su carácter familiar, su base genética y el riesgo de MSC que comportan; en base a sus

resultados, pueden diseñarse estrategias preventivas que eviten eventos fatales en el paciente y sus familiares [2], [97], [454], [455]. De un modo general, realizar un estudio genético en pacientes con cardiopatías familiares permite:

- Optimizar el diagnóstico facilitando la búsqueda de la etiología de la enfermedad.
- Identificar familiares portadores asintomáticos.
- Mejorar aproximación pronóstica.
- En algunos casos, adecuar el tratamiento como, por ejemplo, el caso de Fabry o de miocardiopatía dilatada por déficit de L-carnitina.

El estudio de estas patologías parte de un estudio cardiológico exhaustivo del caso índice y una valoración clínica en la que está recomendado evaluar la presencia de fármacos con riesgo de prolongación de QT o TdP en caso de pacientes con sospecha de arritmia ventricular [243]. Es importante incluir un árbol familiar, de por lo menos tres generaciones, que recabe la historia familiar completa relacionada con la cardiopatía. Debe ir acompañado siempre de un consentimiento informado firmado tras una consulta de consejo genético en la que se ha explicado al paciente en qué consiste la prueba, sus riesgos, beneficios y limitaciones de la misma [87].

Por su potencial diagnóstico, la secuenciación masiva (también llamada NGS, por sus siglas en inglés, *Next-Generation Sequencing*) hoy en día es una herramienta fundamental en el estudio genético de las cardiopatías familiares con riesgo de MSC. Dada la marcada heterogeneidad clínica y genética que caracteriza a estas patologías, el estudio genético mediante secuenciación masiva se ha implantado en la práctica clínica, demostrando ser una herramienta que aumenta la rentabilidad diagnóstica [456], [457]. Permite estudiar simultáneamente gran cantidad de genes, lo que es especialmente interesante en estas patologías en las que genes diferentes pueden dar un fenotipo similar, y un mismo gen puede asociarse a fenotipos diferentes. Con esta tecnología se puede, además, explorar la presencia de genotipos complejos, mejorar la correlación genotipo-fenotipo y profundizar más en la enfermedad y sus mecanismos fisiopatológicos. La secuenciación masiva ha supuesto una revolución también en el estudio genético en la práctica forense ya que, a partir de una pequeña cantidad de ADN, permite estudiar gran cantidad de genes en una única prueba a un coste asequible y en un tiempo razonable [458], [459]. Desde que 454 Life Science comercializó en 2005 la primera plataforma de secuenciación masiva (Roche 454 FLX), esta tecnología ha contado con numerosos avances, ofreciendo cada vez una mayor productividad, un abanico más amplio de aplicaciones y un resultado más fiable [453]. Además, permite detectar no solo variaciones de un solo nucleótido, también *indels*, inversiones, traslocaciones, deleciones o duplicaciones.

Actualmente hay en el mercado distintas tecnologías de secuenciación masiva, sin embargo, todas tienen en común varios procesos del flujo de trabajo: la preparación de la librería (fragmentación del ADN, ligación de adaptadores universales y, en algunas, amplificación), la secuenciación paralelizada de un gran número de moléculas (de decenas de miles hasta miles de millones por muestra y experimento), el análisis bioinformático y la interpretación biológica de los resultados.

Puesto que no todas las plataformas de secuenciación tienen capacidad para secuenciar el genoma humano completo, se utilizan sistemas de enriquecimiento que permiten seleccionar las regiones de interés del ADN que posteriormente se secuenciarán. Con ello se abarata el proceso y se reducen los recursos necesarios. De ahí que en la actualidad convivan estudios de paneles de genes candidatos, exoma dirigido, exoma completo y genoma completo. Para



seleccionar el tipo de estudio y asegurar su calidad y fiabilidad es importante tener en cuenta dos aspectos: la cobertura (porcentaje de bases del genoma de referencia que están secuenciándose un número determinado de veces) y la profundidad de lectura (número promedio de veces que cada base en el genoma es secuenciada), especialmente trabajando con muestras *post mortem* [460]. Estudios recientes recomiendan una profundidad de lectura de 20 (comúnmente referido como 20X) para diagnóstico y la confirmación mediante secuenciación Sanger de las variantes identificadas para descartar falsos positivos, sobre todo en el caso de inserciones y deleciones [461].

Hoy en día la estrategia más utilizada tanto en la autopsia molecular en casos de MSC, como en diagnóstico molecular de las cardiopatías familiares en clínica, es el estudio mediante paneles de genes candidatos [105], [457], [97]. Con esta estrategia se puede elegir qué genes que se quieren secuenciar, facilita una buena calidad de secuenciación y permite asegurar mayor profundidad de lectura en las regiones diana, a un coste, por el momento, menor que el exoma completo. Sin embargo, la secuenciación tradicional por electroforesis capilar o secuenciación Sanger sigue utilizándose tanto para confirmar las variantes de la secuenciación masiva como para estudiar la cosegregación de dichas variantes en familiares.

El uso de paneles de genes facilita la detección bioinformática de alteraciones estructurales como reordenamientos o CNV, que también se recomienda confirmar mediante otra tecnología, como MLPA (amplificación de sonda dependiente de ligación, del inglés, *Multiplex ligation-dependent probe amplification*) o PCR a tiempo real (rtPCR) [462]. Se ha observado, además, que paneles más extensos, como el exoma, no aumentan significativamente la sensibilidad del diagnóstico, pero sí la posibilidad de encontrar variantes de significado clínico incierto (VUS) o hallazgos incidentales (variantes clínicamente relevantes para enfermedades que no son objeto de estudio) [463]–[465]. La secuenciación del exoma completo con el análisis dirigido a los genes asociados al fenotipo de estudio ya se está realizando en algunos centros y, en un futuro cercano, es probable que sea la opción más utilizada [466]–[468]. Esta estrategia ofrece varias ventajas, como la opción de reanalizar los resultados en un futuro conforme se vayan descubriendo nuevos genes o la flexibilidad para adecuarse al trabajo de rutina de laboratorio unificando protocolos para distintas enfermedades.

Para seleccionar los genes a estudio y elaborar el diseño del panel a secuenciar, cabe diferenciar si el estudio genético se lleva a cabo con fines diagnósticos o de investigación. Si el objetivo es meramente diagnóstico, las últimas recomendaciones para el diagnóstico genético de cardiopatías familiares de la *American Heart Association* indican que deben incluirse en el estudio solo los genes con evidencia de causalidad definitiva (o moderada en el caso de MCH), relegando a fines de investigación los genes minoritarios, asociados a formas atípicas o con causalidad pendiente de confirmar (Tabla 18) [97]. Como ejemplo, si la sospecha de la causa de muerte es una canalopatía, a pesar de que se conocen más de 30 genes relacionados, los expertos recomiendan el estudio de los seis genes mayoritarios: *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNJ2*, *RYR2* y *CASQ2*.

Otro punto crítico que considerar en el flujo de trabajo de estas tecnologías es el análisis bioinformático. Es un paso complejo que será distinto en función de la aplicación o técnica utilizadas. Por lo general, el análisis de datos de secuenciación de ADN comprende: un preprocesamiento o limpieza de los datos (alineamiento y ensamblaje con un genoma de referencia y un análisis de calidad), llamada de variantes, anotación de variantes, revisión de la calidad de la secuenciación y priorización de las variantes. Teniendo en cuenta la gran cantidad de datos que se generan en cada secuenciación, su manejo y almacenamiento se presenta como un reto de las tecnologías de secuenciación masiva. Para gestionar tal volumen de datos se

requieren recursos informáticos que aseguren suficiente capacidad de cómputo y un almacenamiento adecuado de los mismos algo que, hoy en día, no todos los centros pueden permitirse. La priorización de las variantes es un filtrado que permite descartar las variantes que no resultan de interés, de forma que se obtiene un listado de variantes candidatas que serán interpretadas y clasificadas. Este filtrado se considera, muchas veces, parte del proceso de interpretación de variantes puesto que se lleva a cabo siguiendo las recomendaciones de interpretación de variantes de secuenciación del *American College of Medical Genetics and Genomics* y la *Association for Molecular Pathology* (ACMG/AMP). Los criterios se adaptan en función de la sospecha o causa de muerte en forense o del diagnóstico clínico. Estos criterios se detallan en el ARTÍCULO 2 y el apartado de DISCUSIÓN GENERAL [469].

Tabla 18. Genes recomendados por la AHA para el estudio de miocardiopatías y canalopatías cardíacas.

<i>Miocardiopatías</i>	
<i>Cardiopatía</i>	<i>Genes</i>
<b>MCH</b>	<i>CACNA1C, CSRP3, DES, FHL1, FLNC, GLA, JPH2, LAMP2, MYBPC3, MYH7, PLN, PRKAG2, PTPN11, RAF1, RIT1, TNNC1, TNNT2, TNNI3, TPM1, ACTC1, MYL2, MYL3, TTR</i>
<b>MCD</b>	<i>TTN, LMNA, MYH7, TNNT2, BAG3, RBM20, TNNC1, TNNI3, TPM1, SCN5A, PLN;</i> <i>se recomienda incluir genes de MCH y MAVD</i>
<b>MAVD</b>	<i>DES, DSC2, DSG2, DSP, JUP, LMNA, PKP2, PLN, RYR2, SCN5A, TMEM43, TTN;</i> <i>se recomienda considerar genes MCD</i>
<b>MCR</b>	<i>TTR;</i> <i>se recomienda considerar genes MCH o MCD</i>
<b>MCNC</b>	<i>Genes de MCH, MCD, MAVD asociados con fenotipo de MCNC</i>
<i>Síndromes arritmogénicos</i>	
<b>SQTL</b>	<i>KCNQ1, KCNH2, SCN5A</i>
<b>SQTC</b>	<i>KCNH2, KCNQ1, KCNJ2</i>
<b>SBr</b>	<i>SCN5A</i>
<b>TVPC</b>	<i>RYR2, CASQ2</i>

Tabla de elaboración propia, realizada a partir de los datos de [96], [97], [142], [288], [454], [470].

Otro de los retos a los que se enfrenta la secuenciación masiva es la interpretación biológica de los resultados genéticos ya que, al secuenciar un mayor número de genes, aumenta la cantidad de variantes detectadas [471]. Según las guías de ACMG/AMP, las variantes priorizadas deben clasificarse según su patogenicidad en cinco categorías: patogénica, probablemente patogénica, variante de significado clínico incierto, probablemente benigna y benigna, siempre reportándose con relación a una enfermedad y un patrón de herencia. Las variantes se clasifican en función de los criterios establecidos en dichas recomendaciones, como: frecuencia alélica en población general, impacto funcional en la proteína, evidencia de estudios funcionales, estudios de cosegregación de la variante con la enfermedad en la familia, el patrón de herencia, si la variante es *de novo*, si está descrita en bases de datos de enfermedad, etc. Sin embargo, estas recomendaciones se establecieron como punto de partida para ser mejoradas en un futuro y, actualmente, se están llevando a cabo iniciativas para mejorarlas [472]–[476].

A diferencia del estudio genético en el campo forense, en la práctica clínica se cuenta, por lo general, con una sospecha diagnóstica, historia clínica previa e historia familiar. Este hecho facilita la asignación de patogenicidad de las variantes detectadas, dentro de la dificultad que conlleva en sí la interpretación de las variantes y su traslación a la clínica en las cardiopatías familiares ya que una misma variante puede asociar penetrancia incompleta y expresividad variable interfamiliar e intrafamiliar [230], [468], [477]. La historia familiar, el estudio de cosegregación y la correlación genotipo-fenotipo son esenciales para aclarar el valor clínico de la variante candidata [478], [479]. A pesar de ello, un número considerable de pacientes tienen resultados no informativos sin variantes candidatas o con variantes inciertas cuya utilización, por consenso, no está recomendada con valor clínico predictivo de enfermedad [480]. Tan solo en investigación puede ser recomendable estudiar la cosegregación familiar de la variante incierta, pero en ningún caso deberían tomarse decisiones clínicas en los portadores.

Se recomienda revisar los resultados genéticos periódicamente ya que las variantes pueden ser reclasificadas con el paso del tiempo, en cuyo caso, si son reclasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas, entonces sí podrán utilizarse con valor clínico predictivo [95], [475], [476]. Algunas de las cardiopatías familiares son relativamente recientes (el síndrome de Brugada se describió por primera vez en 1992) y, hoy por hoy, siguen investigándose nuevos genes asociados, nuevos mecanismos de expresión génica, incluso nuevas evidencias de herencia poligénica, por ejemplo, en SQT [229], [256]. El rendimiento diagnóstico varía mucho en función de la cardiopatía. En la actualidad, gracias a la secuenciación masiva, pueden conseguirse rendimientos diagnósticos de en torno a un 30 % en SBr, 50 – 70 % en MCH o hasta un 86 % en el caso de SQT. Cabe destacar que un estudio genético negativo no excluye un diagnóstico, especialmente si el probando tiene un diagnóstico clínico.

Finalmente, según las guías y documentos de consenso nacionales e internacionales, se recomienda que el estudio de las cardiopatías familiares se lleve a cabo por unidades especializadas con equipos multidisciplinarios debido a su heterogeneidad y complejidad, principalmente relacionada con la implicación clínica de los resultados genéticos y la rápida evolución del conocimiento científico en el campo [2], [87], [480], [481].

## 5.2 Estudio genético de la muerte súbita cardíaca

Las cardiopatías familiares tienen en común el riesgo de muerte súbita cardíaca que, en algunos casos, puede ser la primera manifestación de la enfermedad. Estas cardiopatías son causa principal de MSC en individuos menores de 40 años. En alrededor el 2 – 54% de estas muertes no se identifica la causa tras un estudio *post mortem* exhaustivo (macroscópico, microscópico y toxicológico), dando lugar a lo que se denomina “autopsia blanca” [253], [296], [482]. En estos casos, la sospecha principal son las canalopatías que, por definición, son alteraciones funcionales, arritmogénicas, sin cambio estructural. Remitiéndonos a Tester *et al.*, se estima que un tercio de estos individuos son portadores de alteraciones genéticas en genes asociados a estos trastornos arritmogénicos y se beneficiarían del estudio genético *post mortem* [227].

Cuando las miocardiopatías (causas estructurales) son la causa de la muerte, la mayoría de los casos pueden diagnosticarse durante el análisis macroscópico de la autopsia por los cambios anatómicos que presentan en el tejido cardíaco. Sin embargo, varios autores sugieren que las miocardiopatías pueden causar alteraciones eléctricas sin alteraciones estructurales evidentes, principalmente en casos de SIDS y jóvenes. Artículos como el de Santori *et al.* o Campuzano *et al.* muestran un alto porcentaje de variantes genéticas en genes asociados con miocardiopatías en casos de SIDS con corazones sin alteraciones estructurales evidentes [458], [483]. Esto podría deberse a que las miocardiopatías son enfermedades progresivas que pueden encontrarse

en estadios tempranos de la enfermedad, o bien a que dichas alteraciones genéticas pueden alterar la homeostasis y ser responsables de la arritmogénesis, sin dar lugar a cambios macroscópicos [484]–[488].

Dado el sustrato genético subyacente en la MSC, el estudio genético *post mortem* o “autopsia molecular” ha sido ampliamente recomendado por muchos autores a la vista de los resultados que arrojan los estudios de secuenciación masiva en muestras *post mortem* [307], [489]–[492]. Actualmente, no hay un protocolo internacional avalado para realizar estudios genéticos *post mortem*, pero sí está recomendado por las guías internacionales en los casos de MSC en los que se sospecha que una canalopatía o miocardiopatía pueda ser la causa de la muerte [1], [2]. La Asociación Europea de Patología Cardiovascular (AECVP, por sus siglas en inglés, *Association for European Cardiovascular Pathology*), en su guía para la práctica de la autopsia en la investigación de la MSC, recomienda el test genético tras un estudio exhaustivo de los familiares de primer grado del fallecido, según los hallazgos de la autopsia en la víctima y el criterio del patólogo [1]. En dicha guía, la AECVP indica la importancia de los fármacos como posibles desencadenantes de la arritmia letal, tanto en individuos con corazones normales, como con alteraciones estructurales. Sugiere tener en cuenta los factores genéticos que puedan alterar la respuesta individual al fármaco, especialmente con fármacos que prolongan el QT.

Sin embargo, si en clínica el estudio genético mediante secuenciación masiva presentaba varios retos, en el campo forense hay que sumar la dificultad de obtener una muestra de partida apropiada. Este es, muchas veces, un punto de partida limitante ya que puede suponer que el ADN esté parcial o totalmente degradado y resulte inservible. Es una práctica habitual, por ejemplo, la obtención de muestras de tejido fijado en formalina y embebido en parafina de autopsias de SIDS. La calidad del ADN que se obtiene de estas muestras suele ser muy baja, no solo por la degradación sino también por la presencia de inhibidores que impiden que se lleve a cabo la secuenciación. Una encuesta llevada a cabo por Michaud *et al.* mostró que alrededor del 40% de los participantes no tomaba la muestra adecuada para el estudio genético *post mortem* [493]. Para intentar evitar este problema en la medida de lo posible, las guías establecen los criterios de toma de muestra y almacenamiento que deben cumplirse para obtener muestras con alta calidad de ADN destinadas al estudio genético [494].

También la interpretación biológica de los resultados genéticos es especialmente compleja en los casos forenses ya que muchas veces no se cuenta con la historia clínica del individuo ni existe diagnóstico de enfermedad durante la autopsia [494], [495]. En un individuo que ha sufrido MSC, la identificación de una alteración genética no es suficiente para establecer un diagnóstico y declarar la causa de la muerte, particularmente en ausencia de un fenotipo claro en la víctima [496]. Por ello, las variantes identificadas tienen que interpretarse siempre en un contexto familiar con consejo genético adecuado y estudio de cosegregación [1], [497], [498].

### 5.3 Estudio farmacogenético de las proarritmias

Aproximadamente un 50 – 75% de los pacientes responden bien a un primer fármaco en el tratamiento de un gran número de enfermedades [499]. Además, se estima que, cada año, las reacciones adversas a los medicamentos son responsables de un 6,5% de las hospitalizaciones y que un 14,7% de pacientes ingresados experimenta reacciones adversas a medicamentos [500]–[502]. Ante estos datos, se investigan constantemente biomarcadores genómicos capaces de predecir la probabilidad de desarrollar toxicidad como efecto adverso al fármaco (biomarcadores de seguridad). Estos biomarcadores vendrían a sustituir al método prueba-error en el que se basan los clínicos para estudiar el efecto de las distintas terapias en cada paciente.



Cuando se autoriza un nuevo fármaco, la información de seguridad es relativamente limitada debido, entre otros factores, a cohortes pequeñas, criterios de inclusión muy estrictos, estudios en subpoblaciones o condiciones restrictivas del tratamiento. Por ello las reacciones adversas graves y poco comunes pueden no aparecer hasta después de la autorización, cuando la población expuesta al fármaco aumenta. Identificar las variantes genéticas que aumentan el riesgo de sufrir dichos eventos puede aumentar la eficacia de los fármacos y disminuir los efectos secundarios [503]. De hecho, las compañías farmacéuticas están optando por incorporar nuevos biomarcadores en las fases precoces de investigación y desarrollo de fármacos, ante los problemas de seguridad, eficacia y farmacocinética que presentan algunos fármacos.

La investigación de la variación genómica que influye en la respuesta a fármacos y sus efectos adversos está liderada principalmente por la *Pharmacogenomics Research Network* (PGRN; <https://www.pgrn.org/>) y *Royal Dutch Association for the advancement of Pharmacy-Pharmacogenetics Working Group* (DPWG; <http://upgx.eu/guidelines/>). La PGRN es una sociedad científica que cuenta con distintos recursos y proyectos que colaboran entre sí: PharmGKB (<http://www.pharmgkb.org>), CPIC (*Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*; <https://cpicpgx.org/>) y PharmVar [411]. PharmGKB es una base de datos que engloba información sobre el impacto de la variación genética en la respuesta a fármacos, incluyendo datos clínicos, como: pautas de dosificación, etiquetas de medicamentos, farmacogenes potencialmente accionables y relaciones fenotipo-genotipo; incluye además las recomendaciones de las agencias reguladoras: FDA y EMA. CPIC es un consorcio internacional que elabora guías de práctica clínica para comprender cómo optimizar la terapia en función del fenotipo, el genotipo y el fármaco, según la evidencia científica publicada; y PharmVar es un consorcio cuya base de datos es el repositorio de la variación alélica de los genes implicados en el metabolismo, distribución y respuesta a fármacos. Otra asociación relevante en el campo de la farmacogenética es *Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety* (CPNDS; <http://cpnds.ubc.ca/>), que también publica guías clínicas de dosificación de fármacos basadas en asociaciones gen-fármaco. En cuanto a las recomendaciones terapéuticas entre las guías de las distintas asociaciones, algunas coinciden, pero hay ciertas discrepancias, principalmente de metodología. La investigación sobre la farmacogenética y farmacogenómica es extensa y, actualmente, se están dedicando muchos esfuerzos para centralizar las evidencias y salvar la discordancia entre recomendaciones de distintas guías para su implementación en la rutina clínica [504]–[506].

Existen multitud de investigaciones en el campo de la farmacogenética y cada vez hay más biomarcadores validados por las agencias reguladoras EMA y FDA, pero es necesaria más evidencia para explorar nuevos biomarcadores y validar los ya conocidos. Para agilizar el proceso de validación, la EMA y la FDA han creado grupos de trabajo específicos que se encargan de validar la evidencia científica y aprobar biomarcadores validados para incorporarlos a la ficha técnica del medicamento. Estos estudios de validación para establecer nuevos regímenes de dosificación son generalmente ensayos clínicos, controlados y aleatorizados cuya ejecución es limitada [507]; son muy costosos y es difícil conseguir los tamaños de muestra que se requieren para probar un beneficio clínico en subpoblaciones de pacientes y, además, replicar los resultados, teniendo en cuenta que algunos efectos estudiados son muy poco frecuentes (las reacciones adversas graves, por ejemplo). Otro de los aspectos que ha ralentizado la validación de los biomarcadores en farmacogenética ha sido la falta de estandarización a la hora de establecer la capacidad metabólica de los CYP en función de su genotipo [508].

La transferencia de los resultados de la investigación clínica a la práctica asistencial avanza despacio y su uso es aún limitado. Requiere una regulación estricta para su implantación en la práctica asistencial, pero actualmente no existe un marco legal que regule e imponga un uso homogéneo de estas pruebas. Un avance hacia políticas regulatorias serían nuevos estudios que demuestren beneficios cuantificables en el paciente, tanto económicos como clínicos, del uso de paneles de farmacogenes en distintas áreas terapéuticas [504]. Van Driest *et al.*, 2014 demostraron el potencial de las interacciones gen-fármaco cuando detectaron que un 91% de pacientes genotipados de una cohorte de 10 000 era portador de, al menos, uno de los cinco genotipos accionables estudiados (*CYP2C19* para clopidogrel, *SLCO1B1* para simvastatina, *CYP2C9* y *VKORC1* para warfarina, *TPMT* para tiopurinas y *CYP3A5* para tacrolimus) [509]. Varias iniciativas (PREDICT, IGNITE Network, FARMAPRICE, PREPARE, etc.) estudian la implementación en la clínica y están incorporando información genómica en la historia electrónica de los pacientes para facilitar la toma de decisiones en función de variantes farmacogenéticas con niveles altos de evidencia y de una manera coste-eficiente [504], [510]–[514]. No obstante, solo unos pocos biomarcadores se usan de forma habitual en la rutina clínica: HLA-B\*57:01 en el tratamiento con el antirretroviral abacavir para evitar hipersensibilidad, las variantes G551D y F508del en el gen *CFTR* en el tratamiento con ivacaftor o ivacaftor/lumacaftor, respectivamente, en pacientes con fibrosis quística; el estudio de mutaciones en el gen *K-RAS* en cáncer de colon para detectar no respondedores; y varios biomarcadores en fármacos antitumorales en pacientes en los que se autoriza el tratamiento si son portadores de determinadas variantes genéticas en el tumor, por ejemplo: la terapia con crizotinib está autorizada en pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas en pacientes con reordenamientos en el gen *ALK* o vemurafenib y la combinación de dabrafenib/trametinib en pacientes con melanoma avanzado portadores de la variante V600E en el gen *BRAF* [515].

Actualmente, la FDA cuenta con una tabla de 431 biomarcadores farmacogenómicos (para 282 fármacos) que están incluidos en la ficha técnica del fármaco, entre los que se encuentran variantes germinales o somáticas, alteraciones funcionales de origen genético, diferencias en la expresión de los genes y alteraciones cromosómicas [437]. En febrero de este mismo año (2020), la FDA publicaba, por primera vez, un cuadro de asociaciones farmacogenéticas gen-fármaco a) con evidencia que respalda recomendaciones de manejo terapéutico (51 asociaciones), b) asociaciones con impacto potencial en la seguridad o respuesta al fármaco (19) y c) asociaciones cuya evidencia demuestra impacto potencial solo en las propiedades farmacocinéticas (37) [427]. Estas asociaciones están relacionadas con variantes en genes que codifican enzimas metabolizadoras, proteínas transportadoras y genes relacionados con la predisposición de determinados eventos adversos. En paralelo, la EMA ha aprobado también numerosos biomarcadores farmacogenéticos; sin embargo, no cuenta con una lista a la que se pueda acceder fácilmente y hay que acudir a la base de datos PharmGKB, que recoge la información publicada por la EMA sobre los medicamentos autorizados. No coinciden todas las recomendaciones de las dos agencias reguladoras y tampoco con las de CPIC y DPWG.

La secuenciación masiva como técnica de estudio genético en las cardiopatías familiares tiene como objetivo, generalmente, identificar variantes raras (muchas veces no descritas previamente). En cambio, el estudio de biomarcadores farmacogenéticos en clínica se aborda mediante el análisis de variantes ya conocidas, con alta evidencia científica y consecuencias que permiten tomar una decisión clínica beneficiosa para el paciente. Para el análisis farmacogenético, entre las técnicas más utilizadas destacan los microarrays y métodos basados en minisecuenciación (electroforesis o espectrometría de masas).

Los biomarcadores farmacogenéticos afectan principalmente a las vías farmacocinéticas y farmacodinámicas del fármaco y se relacionan con la eficacia terapéutica (respondedores/no respondedores) y/o la seguridad del fármaco (toxicidad o aparición de efectos adversos). Las proarritmias, aunque son efectos adversos raros, pueden comprometer la salud de los pacientes por lo que, habitualmente, son objeto de estudio.

En la vía farmacocinética, dos farmacogenes principales aparecen en las guías clínicas asociados a un mayor riesgo de prolongación del QT: *CYP2D6* y *CYP2C19* [427]. Estas asociaciones cuentan con evidencia alta y, muchas veces, cambio de la pauta de dosificación o de medicamento (Tabla 19). Ambos genes codifican enzimas responsables del metabolismo de fármacos; esto es compatible con que, en muchos casos, la prolongación del QT dependa de la concentración plasmática (Cp) del fármaco. La mayoría de las asociaciones se dan en subpoblación de pacientes PM según el fenotipo extrapolado de los haplotipos en cada uno de los genes [411]. Varios test farmacogenéticos comerciales incluyen el estudio de polimorfismos funcionales en *CYP2D6* y *CYP2C19* [516].

Tabla 19. Selección de asociaciones farmacogenéticas de la FDA cuya evidencia respalda recomendaciones de manejo terapéutico.

Fármaco	Gen	Población	Interacción gen-fármaco
Aripiprazol	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica ↑ riesgo de RAM
Aripiprazol Lauroxil	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica
Brexpiprazol	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica
Citalopram	<i>CYP2C19</i>	PM	↑ concentración sistémica ↑ riesgo de RAM (prolongación QT)
Clozapina	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica
Deutetrabenazina	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica ↑ riesgo de RAM (prolongación QT)
Eliglustat	<i>CYP2D6</i>	PM, IM, NM /UM	PM/IM/NM: Altera concentración sistémica, efectividad y RAM (prolongación QT) UM: Puede no alcanzar concentración terapéutica
Iloperidona	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica ↑ riesgo de RAM (prolongación QT)
Pimozida	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica
Tioridazina	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica ↑ riesgo de RAM (prolongación QT) (efecto basado en la experiencia con inhibidores de <i>CYP2D6</i> )
Valbenazina	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica del metabolito activo ↑ riesgo de RAM (prolongación QT)
Venlafaxina	<i>CYP2D6</i>	PM	Altera concentración sistémica del fármaco y del metabolito activo
Vortioxetina	<i>CYP2D6</i>	PM	↑ concentración sistémica

Esta selección recoge medicamentos antipsicóticos y antidepressivos y/o interacciones gen-fármaco relacionadas con la prolongación del intervalo QT con recomendaciones de manejo terapéutico. Estas recomendaciones (ajuste de dosis, suspensión de la terapia, etc.) no se han incluido en esta tabla. Están disponibles en la web de la FDA: <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations> (Consultado el 1 de septiembre de 2020). RAM: reacción adversa medicamentosa.



Gran parte de las asociaciones gen-fármaco relacionadas con prolongación de QT se publican para tratamientos de psiquiatría con antipsicóticos y antidepresivos, pero también se han validado asociaciones con fármacos de otras áreas, por ejemplo: para defectos congénitos del metabolismo (eliglustat), neurología (deutetrabenazina, valbenazina), cardiología (propafenona, antiarrítmico clase 1C), etc. (Tabla 19) [427].

La psiquiatría es una de las áreas con más estudios para explorar nuevos biomarcadores farmacogenéticos por las resistencias al tratamiento y por los efectos adversos que conllevan los antipsicóticos y antidepresivos. Las interacciones gen-fármaco que alcanzan mayor evidencia se dan, principalmente con *CYP2D6* y *CYP2C19* y los inhibidores de ISRS o los ATC (Tabla 19) [517], [518]. Más de 30 antidepresivos y antipsicóticos tienen información farmacogenética relacionada con *CYP2D6* y *CYP2C19* en su ficha técnica según las recomendaciones de la FDA [437]. Ambos CYP son responsables de la biotransformación de un gran número de antidepresivos y antipsicóticos y están incluidos en muchos paneles comerciales dirigidos al tratamiento con estos fármacos. Sin embargo, su uso en clínica es mínimo a pesar de que su influencia en la variabilidad de la respuesta y las reacciones adversas ha sido demostrada en pacientes con antidepresivos y en las reacciones adversas en relación con antipsicóticos, aunque no se ha demostrado un beneficio significativo en eficacia para antipsicóticos [517], [519].

Las variantes farmacogenéticas asociadas con SQTl-IF y TdP-IF en la vía farmacodinámica están aún en fase de descubrimiento. Aunque hay evidencia de que determinados factores genéticos predisponen a estos eventos adversos, actualmente no se utilizan en la práctica clínica para evaluar el riesgo en pacientes [520]. Una de las razones es que las guías más recientes de la ACMG/AMP para la interpretación y clasificación de variantes genéticas están dirigidas a trastornos típicamente mendelianos y no incluyen recomendaciones de cómo reportar variantes comunes que modifican el fenotipo o causan enfermedad bajo determinadas condiciones, como es el caso de muchas variantes relacionadas con proarritmias [520]. Esto hace que muchas variantes potencialmente proarritmicas relativamente comunes se excluyan de los informes de estudio genético a pesar de su importancia a la hora de tomar decisiones clínicas.

El gen *KCNH2* aparece en el listado de genes *VIP Tier 2* (*Very Important Pharmacogenes*) elaborado por PharmGKB, pero no requiere ninguna acción clínica ni recomendación de manejo terapéutico [521]. Este listado incluye todos los farmacogenes considerados “muy importantes” agrupándolos según si la evidencia de la asociación es alta (*Tier 1*) o limitada (*Tier 2*), o si son genes importantes en farmacogenómica tumoral (lista *cancer genome*). La recomendación de *KCNH2* especifica dos variantes: K897T, asociada con SQTl-IF, y R1047L, implicada en la sensibilidad a bloqueantes de  $I_{Kr}$ .

A pesar de ello, se están haciendo esfuerzos por reducir las prescripciones de fármacos que prolongan el intervalo QT en pacientes identificados con mayor riesgo de SQTl-IF y TdP-IF utilizando la información clínica recogida en el historial médico electrónico [522], [523].

A large, light blue watermark of the USC logo is positioned diagonally across the center of the page. The logo consists of the letters 'USC' in a large, bold, sans-serif font, with the full name 'UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA' written in a smaller, all-caps, sans-serif font below it.

# **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**



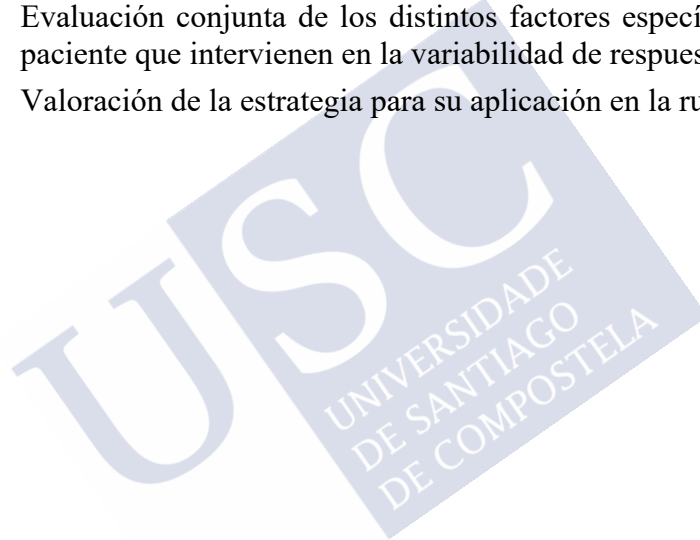
## JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS


La muerte súbita es un evento trágico e inesperado que resulta devastador en una familia. Las cardiopatías familiares son patologías hereditarias que asocian mayor riesgo de muerte súbita cardíaca englobando la mayoría de las causas de muerte súbita en individuos menores de 40 años [453]. Se caracterizan por tener penetrancia incompleta y heterogeneidad clínica y genética. Con el auge de la secuenciación masiva han surgido multitud de plataformas y estrategias disponibles para el abordaje de estas patologías, lo que ha ayudado a descubrir nuevos genes relacionados y a conocer mejor su etiología y mecanismos fisiopatológicos [477], [490]. A pesar de esto, aún hay un porcentaje relativamente alto de pacientes con sospecha de cardiopatía familiar y causa desconocida. En este contexto, la secuenciación masiva es una herramienta necesaria en el estudio del componente genético de la MSC, tanto en clínica como en forense, para: ayudar a identificar la causa genética, optimizar el diagnóstico y pronóstico de las cardiopatías familiares, estratificar el riesgo arritmogénico de pacientes y familiares y complementar la investigación forense en casos de muerte súbita cardíaca [491].

La MSC puede asociarse también al uso de determinados medicamentos [33]. El desarrollo de arritmias ventriculares malignas inducidas por medicamentos es un importante problema de salud pública que, en algunos casos, se podría evitar si se conocieran los factores desencadenantes. Aunque son eventos raros, son potencialmente peligrosos y pueden producirse a dosis terapéuticas. Actualmente, se conocen más de 170 fármacos en el mercado que prolongan el intervalo QT de los cuales aproximadamente un tercio inducen *Torsades de Pointes* en determinados individuos [331]. Se ha descrito también un mayor riesgo de MSC en fármacos que inducen un fenotipo muy similar a síndrome de Brugada [524]. Puesto que estos eventos pueden darse en individuos aparentemente sanos, se buscan biomarcadores que permitan identificar a los pacientes que tienen mayor riesgo de proarritmia, siendo el intervalo QT uno de los indicadores de riesgo de arritmias y MSC más utilizados [433]. Este riesgo arritmogénico puede aumentar si coexiste con otros factores de riesgo, como bradicardia, anomalías cardíacas, interacción con otros fármacos, alteraciones electrolíticas, factores genéticos, etc [276]. Dichos fármacos pueden estar actuando sobre los mismos canales iónicos cardíacos alterados en las canalopatías cardíacas hereditarias. Por ello, muchos estudios señalan alteraciones genéticas asociadas a las formas congénitas de SQTl y SBr como factor de riesgo en la aparición de arritmias inducidas por medicamentos [379]. También se relacionan determinados haplotipos de las isoenzimas del citocromo P450 con un mayor de riesgo de cardiotoxicidad [437]. Los resultados en la literatura son heterogéneos, en parte debido a la gran cantidad de variables que influyen en el desarrollo del evento en cada paciente: comorbilidad, fármacos concomitantes, combinación de factores genéticos, dieta, etc [441]. Identificar las posibles variantes genéticas responsables de estos eventos permitiría personalizar los tratamientos y evitar la retirada innecesaria de medicamentos seguros y beneficiosos para determinados pacientes. Sin embargo, hasta el momento, siguen sin estar claros los mecanismos exactos que subyacen en estos eventos cardíacos.

Con el objetivo principal de aumentar el conocimiento sobre los factores genéticos que subyacen a la muerte súbita cardíaca como consecuencia de cardiopatías familiares o de arritmias inducidas por fármacos, nos planteamos los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluación de la secuenciación masiva como herramienta diagnóstica de cardiopatías familiares. Para ello nos planteamos:
  - a. Validar la secuenciación masiva como parte de una nueva estrategia para el diagnóstico genético de síndromes arritmogénicos.
  - b. Hacer una revisión exhaustiva de la secuenciación masiva como herramienta de autopsia molecular en casos de muerte súbita del adulto joven.
  - c. Optimizar el diagnóstico molecular en casos de SUD y SIDS mediante secuenciación masiva.
2. Estudio farmacogenético de arritmias y muerte súbita cardíaca inducidas por fármacos
  - a. Explorar potenciales biomarcadores farmacogenéticos en proarritmias.
  - b. Analizar los factores genéticos en vías farmacodinámicas.
  - c. Estudio farmacogenético en vías farmacocinéticas.
  - d. Evaluación conjunta de los distintos factores específicos de fármaco y de paciente que intervienen en la variabilidad de respuesta al fármaco.
  - e. Valoración de la estrategia para su aplicación en la rutina clínica y forense.



A large, light blue watermark of the USC logo is positioned diagonally across the page. The logo consists of the letters 'USC' in a large, bold, sans-serif font, with the full name 'UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA' written in a smaller, all-caps, sans-serif font below it.

# **METODOLOGÍA Y RESULTADOS**





## METODOLOGÍA Y RESULTADOS

### ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Todos los trabajos presentados en esta tesis doctoral cumplen los principios éticos sobre la investigación médica en humanos recogidos en la Declaración de Helsinki de 1964 desarrollada por la *World Medical Association*.

Del mismo modo, los estudios desarrollados en esta tesis cuentan con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia (CEIC) con título: “Predisposición xenética ao desenvolvemento de arritmias e morte súbita en pacientes a tratamento con antipsicóticos ou antidepressivos” (código de registro 2012/441) y “Diagnóstico genético de cardiopatías hereditarias mediante secuenciación de nueva generación. Herramientas de detección y priorización de variantes causales” (código de registro 2014/295); así como con la aprobación de los comités de ética locales de las instituciones internacionales colaboradoras.

El tratamiento, comunicación y cesión de la información de los casos incluidos en cada uno de los estudios se han llevado a cabo conforme a lo establecido en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y al Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos.

El tratamiento, comunicación y cesión de la información de los casos incluidos en cada uno de los estudios con anterioridad la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre y al Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016, se han llevado a cabo conforme a lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Oficial y a la Directiva 95/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de octubre de 1995, relativas a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos.

Tanto las muestras recogidas directamente en nuestro laboratorio, como las colecciones cedidas por las instituciones internacionales colaboradoras son conservadas en la colección para la línea de investigación “Investigación en Muerte Súbita Cardíaca” (Nº C.0000537 del Registro Nacional de Biobancos) e “Investigación en Farmacogenética” (Nº C.0000540 del Registro Nacional de Biobancos) conforme al Real Decreto 1716/2011 de Biobancos. El lugar de realización de los estudios es el Laboratorio de Xenética Cardiovascular del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela, en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y la responsable de la custodia de las muestras y los datos es la Doctora María Brion Martínez.

En último lugar, la obtención y utilización de muestras biológicas de personas fallecidas con posterioridad a la entrada en vigor del Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, del Registro Nacional de Biobancos, puede realizarse mediante consentimiento informado (el propio individuo o sus representantes legales, según proceda) si así lo hubieran dispuesto en vida. En el caso de no haber consentimiento informado y el individuo o sus representantes legales no hubieran dejado constancia expresa de su oposición, su utilización será posible previo dictamen favorable del Comité de Ética de Investigación.

El doctorando declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la tesis doctoral.



## RESULTADOS

Los resultados del trabajo de investigación presentado en esta tesis se exponen, a continuación, como un compendio de publicaciones (Artículos 1, 2 y 4) y trabajos en preparación (Artículo 3) bajo la unidad temática “Bases genéticas de las cardiopatías familiares y las arritmias inducidas por fármacos”.

### **ARTÍCULO 1: NEXT GENERATION SEQUENCING CHALLENGES IN THE ANALYSIS OF CARDIAC SUDDEN DEATH DUE TO ARRHYTHMOGENIC DISORDERS**

*María Brion, Alejandro Blanco-Verea, Beatriz Sobrino, Montserrat Santori, Rocío Gil, Eva Ramos-Luis, Marina Martínez, Jorge Amigo, Ángel Carracedo*

**Electrophoresis. 35(21-22):3111-6; 2014 Nov; doi: 10.1002/elph.201400148**

**<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24981977>**

### **ARTÍCULO 2: MASSIVE PARALLEL SEQUENCING APPLIED TO THE MOLECULAR AUTOPSY IN SUDDEN CARDIAC DEATH IN THE YOUNG**

*María Brion, Beatriz Sobrino, Marina Martínez, Alejandro Blanco-Verea, Ángel Carracedo*

**Forensic Sci Int Genet. 18:160-70; 2015 Sep; doi: 10.1016/j.fsigen.2015.07.010**

**<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26243589>**

### **ARTÍCULO 3: MASSIVE PARALLEL SEQUENCING EVALUATION IN THE DIAGNOSIS OF SUDDEN CARDIAC DEATH RELATED DISEASES IN YOUNG ADULTS (TRABAJO EN PREPARACIÓN, RESULTADOS NO PUBLICADOS).**

### **ARTÍCULO 4: GENETIC SUSCEPTIBILITY IN PHARMACODYNAMIC AND PHARMACOKINETIC PATHWAYS UNDERLYING DRUG-INDUCED ARRHYTHMIA AND SUDDEN UNEXPLAINED DEATHS**

*Marina Martínez-Matilla, Alejandro Blanco-Verea, Montserrat Santori, Juan Ansedo-Bermejo, Eva Ramos-Luis, Rocío Gil, Ana María Bermejo, Francisco Lotufo-Neto, Mario H. Hirata, Francesca Brisighelli, Mario Paramo, Ángel Carracedo, María Brion*

**Forensic Sci Int Genet. 42:203-212; 2019 Sep;doi:10.1016/j.fsigen.2019.07.010**

**<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31376648>**



# ARTÍCULO 1: NEXT GENERATION SEQUENCING CHALLENGES IN THE ANALYSIS OF CARDIAC SUDDEN DEATH DUE TO ARRHYTHMOGENIC DISORDERS.

María Brion, Alejandro Blanco-Verea, Beatriz Sobrino, Montserrat Santori, Rocío Gil, Eva Ramos-Luis, Marina Martínez, Jorge Amigo, Ángel Carracedo

Electrophoresis. 35(21-22):3111-6; 2014 Nov; doi: 10.1002/elps.201400148

## Abstract:

Inherited arrhythmogenic disorders are a relatively common cause of cardiac sudden death in young people. Diagnosis has been difficult so far due to the genetic heterogeneity of the disease. Next generation sequencing (NGS) is offering a new scenario for diagnosis. The purpose of our study was to validate NGS for the analysis of 28 genes known to be associated with inherited arrhythmogenic disorders and therefore with sudden cardiac death. *SureSelect* hybridization was used to enrich DNA from 53 samples, prior to be sequenced with the SOLID™ System of Life Technologies. Depth of coverage, consistency of coverage across samples, and location of variants identified were assessed. All the samples showed a depth of coverage over 200X, except one of them discarded because of its coverage below 30X. Average percentage of target bp covered at least 20X was 96.45%. In the remaining samples, following a prioritization process 46 possible variants in 31 samples were found, of which 45 were confirmed by Sanger sequencing. After filtering variants according to their minor allele frequency in the *Exome Sequencing Project* 27 putative pathogenic variants in 20 samples remained. With the use of in silico tools, 13 variants in 11 samples were classified as likely pathogenic. In conclusion, NGS allowed us to accurately detect arrhythmogenic disease causing mutations in a fast and cost-efficient manner that is suitable for daily clinical and forensic practice of genetic testing of this type of disorders.

## Resumen:

Los trastornos arritmogénicos hereditarios son una causa relativamente común de muerte súbita cardíaca en los jóvenes. Hasta ahora, su diagnóstico ha sido difícil debido a la heterogeneidad genética de estas patologías. La secuenciación de nueva generación (NGS) presenta un nuevo escenario para su diagnóstico. El objetivo de nuestro estudio fue validar la NGS para el análisis de 28 genes asociados con trastornos arritmogénicos hereditarios y, por lo tanto, con muerte súbita cardíaca. Se utilizó la hibridación *SureSelect* para enriquecer el ADN de 53 muestras, antes de ser secuenciadas con SOLID™ System de Life Technologies. Se evaluó la profundidad de la cobertura, la cobertura de la región secuenciada en las muestras y las variantes identificadas. Todas las muestras mostraron una profundidad de lectura superior a 200X, excepto una de ellas descartada por su cobertura inferior a 30X. El porcentaje medio de la región de interés cubierto al menos a 20X fue del 96,45%. En el resto de las muestras, tras un proceso de priorización, se encontraron 46 posibles variantes en 31 muestras, de las cuales 45 fueron confirmadas por secuenciación Sanger. Después de filtrar las variantes de acuerdo a su frecuencia alélica en *Exome Sequencing Project*, quedaron 27 variantes patogénicas putativas en 20 muestras. Con el uso de herramientas *in silico*, 13 variantes en 11 muestras se clasificaron como probablemente patogénicas. En conclusión, la NGS nos permitió detectar con precisión mutaciones patogénicas causantes de enfermedades arritmogénicas de una manera rápida y coste-eficiente, adecuada para la práctica clínica y forense de pruebas genéticas en este tipo de trastornos.



**Contribuciones principales de la doctoranda en el ARTÍCULO 1:**

- Revisión bibliográfica
- Revisión retrospectiva y selección de casos SUD
- Extracción de ADN, cuantificación, determinación de grado de pureza y determinación de integridad de ácidos nucleicos
- Estudio mediante secuenciación Sanger de los genes *KCNQ1*, *KCNH2* y *SCN5A*
- Procesamiento de muestras para su posterior estudio mediante secuenciación masiva
- Análisis e interpretación de variantes de secuenciación masiva
- Confirmación mediante secuenciación Sanger de las variantes candidatas resultantes de la secuenciación masiva: diseño de *primers* para regiones diana, amplificación ADN mediante PCR, purificación, secuenciación y análisis de secuencias
- Redacción y revisión del artículo.



**ARTÍCULO 2: MASSIVE PARALLEL SEQUENCING APPLIED TO THE MOLECULAR AUTOPSY IN SUDDEN CARDIAC DEATH IN THE YOUNG.**

María Brion, Beatriz Sobrino, Marina Martínez, Alejandro Blanco-Verea, Ángel Carracedo  
Forensic Sci Int Genet. 18:160-70; 2015 Sep; doi: 10.1016/j.fsigen.2015.07.010

**Abstract:**

Sudden cardiac death in the young is a very traumatic event that occurs often in apparently healthy individuals without an explainable cause of death after a comprehensive medico-legal investigation. Knowledge about the pathologies with a risk of sudden death is increasingly showing a greater underlying genetic heterogeneity, which provides one of the main handicaps for molecular autopsy. On the other hand, the enormous technological advances in sequencing technologies, allow us to analyse as many genes as we want at a cost increasingly reduced. The sum of these two factors (increased knowledge of genetics and available technologies) allow us to make an individualized study of the causes of sudden cardiac death in young adults, through massive sequencing of all potential genes involved in the process. We define this approach as massive genomic autopsy, and with this review we will try to explain the possible scenarios and methods available for its implementation.

**Resumen:**

La muerte súbita cardíaca en los jóvenes es un evento muy traumático que ocurre a menudo en individuos aparentemente sanos sin una causa de muerte explicable después de una investigación medicolegal exhaustiva. El conocimiento de las patologías con riesgo de muerte súbita muestra cada vez más una mayor heterogeneidad genética subyacente, lo que supone uno de los principales hándicaps en la autopsia molecular. Por otro lado, los enormes avances tecnológicos en las tecnologías de secuenciación nos permiten analizar tantos genes como queramos a un coste cada vez más reducido. La suma de estos dos factores (mayor conocimiento de la genética y tecnologías disponibles) nos permite realizar un estudio individualizado de las causas de muerte súbita cardíaca en adultos jóvenes mediante la secuenciación masiva de todos los genes potenciales implicados en el proceso. Definimos este abordaje como autopsia genómica masiva y con esta revisión intentaremos explicar los posibles escenarios y métodos disponibles para su implementación.

**Contribuciones principales de la doctoranda en el ARTÍCULO 2:**

- Revisión de las principales cardiopatías familiares asociadas a MSC y los principales genes asociados
- Revisión de las bases de datos y criterios publicados para el análisis de resultados de secuenciación masiva (filtrado de variantes, interpretación y clasificación)
- Redacción y revisión del artículo.





**ARTÍCULO 3: MASSIVE PARALLEL SEQUENCING EVALUATION IN THE DIAGNOSIS OF SUDDEN CARDIAC DEATH RELATED DISEASES IN YOUNG ADULTS.**

María Brion, Marina Martínez-Matilla, Alejandro Blanco-Verea, Eva Ramos-Luis, Gisele Bastos, Rosario Domínguez Crespo Hirata, Thiago Domínguez Crespo Hirata, Marcelo Sampaio, Lara Reinell de Castro, Ángel Carracedo, Mario H Hirata.

*(En preparación)*

**Abstract:**

Most of the cardiac inherited diseases with risk of sudden death in young adults are genetically heterogeneous diseases, with a large number of genes and mutations involved. The application of massive sequencing tools that allow quick and cost-effective screening of genes involved have emerged as a strategy of choice for genetic diagnosis of the same. Massive parallel sequencing was applied to a cohort of 81 patients with inherited cardiac diseases, from the region of São Paulo (Brazil). The success of the massive sequencing as a tool for genetic diagnosis was evaluated in terms of genetic variants found and likelihood of pathogenicity of the same. Pathogenic or probably pathogenic genetic variants were found in 26% of patients. However, some differences were found among the inherited diseases considered, being the hypertrophic cardiomyopathy the most successful in the genetic diagnosis with a 33% of the patients showing putative pathogenic mutations.

**Resumen:**

La mayoría de las enfermedades hereditarias cardíacas con riesgo de muerte súbita en adultos jóvenes son enfermedades genéticamente heterogéneas, con una gran cantidad de genes y mutaciones involucradas. La aplicación de herramientas de secuenciación masiva que permiten un cribado rápido y coste-efectivo de los genes implicados se ha convertido en una estrategia de elección para el diagnóstico genético de los mismos. Se aplicó secuenciación masiva en paralelo a una cohorte de 81 pacientes con cardiopatías familiares de la región de São Paulo (Brasil). Se evaluó el éxito de la secuenciación masiva como herramienta para el diagnóstico genético en términos de variantes genéticas encontradas y probabilidad de patogenicidad de las mismas. Se encontraron variantes genéticas patogénicas o probablemente patogénicas en el 26% de los pacientes. Sin embargo, se encontraron algunas diferencias entre las enfermedades hereditarias consideradas, siendo la miocardiopatía hipertrófica la cardiopatía con mayor rendimiento diagnóstico con un 33% de los pacientes mostrando mutaciones potencialmente patogénicas.

**Contribuciones principales de la doctoranda en el ARTÍCULO 3:**

- Revisión bibliográfica
- Selección de pacientes y actualización de la base de datos
- Procesamiento de muestras para su posterior estudio mediante secuenciación masiva,
- Análisis e interpretación de variantes
- Confirmación de variantes candidatas y estudio de regiones mal cubiertas resultantes de la secuenciación masiva mediante secuenciación Sanger: diseño de *primers* para regiones diana, amplificación ADN mediante PCR, purificación, secuenciación y análisis de secuencias
- Redacción y revisión del artículo.



## Massive parallel sequencing evaluation in the diagnosis of sudden cardiac death related diseases in young adults

**Lead author:** María Brion

**Short title:** Massive sequencing in sudden cardiac death

**Word count:** 3896

**Corresponding author:** María Brion, PhD., Instituto Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Laboratorio 1. Travesía de Choupana S/N CP: 15706, Santiago de Compostela (A Coruña), Spain. Tel: +34981955310. E-mail: [maria.brion@usc.es](mailto:maria.brion@usc.es)

María Brion<sup>\*1,2</sup>, Marina Martínez-Matilla<sup>1,2</sup>, Alejandro Blanco-Verea<sup>1,2</sup>, Eva Ramos-Luis<sup>1,2</sup>, Gisele Bastos<sup>3</sup>, Rosario DC Hirata<sup>4</sup>, Thiago DC Hirata<sup>4</sup>, Marcelo Sampaio<sup>3</sup>, Lara Reinél de Castro<sup>3</sup>, Ángel Carracedo<sup>2,5</sup>, Mario H Hirata<sup>3,4</sup>.

<sup>1</sup>Xenética de Enfermidades Cardiovasculares e Oftalmolóxicas, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela, Spain

<sup>2</sup>Grupo de Medicina Xenómica, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela - Universidade de Santiago de Compostela - Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Spain

<sup>3</sup>Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, Brazil

<sup>4</sup>Facultade de Farmacia, Universidade de São Paulo, Brazil

<sup>5</sup>Center of Excellence in Genomic Medicine Research, King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia

### Abbreviations

ACMG = American College of Medical Genetics and Genomics; ARVC = arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy; BrS = Brugada syndrome; CPVT = catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia; DCM = dilated cardiomyopathy; HCM = hypertrophic cardiomyopathy; LQTS = long QT syndrome; LVNC = left ventricular non compactation; MPS = massive parallel sequencing; SCD = sudden cardiac death; TAAD = thoracic aortic aneurysm or dissection; VUS = variant of unknown significance.

### Abstract

Most of the cardiac inherited diseases with risk of sudden death in young adults are genetically heterogeneous diseases, with a large number of genes and mutations involved. The application of massive sequencing tools that allow quick and cost effective screening of genes involved have emerged as a strategy of choice for genetic diagnosis of the same. Massive parallel sequencing was applied to a cohort of 81 patients with inherited cardiac diseases, from the region of São Paulo (Brazil). The success of the massive sequencing as a tool for genetic diagnosis was evaluated in terms of genetic variants found and likelihood of pathogenicity of the same. Pathogenic or probably pathogenic genetic variants were found in 26% of patients. However, some differences were found among the inherited diseases considered, being the hypertrophic cardiomyopathy the most successful in the genetic diagnosis with a 33% of the patients showing putative pathogenic mutations.



## **Keywords**

Sudden cardiac death; cardiomyopathies; primary arrhythmia syndromes; massive parallel sequencing; genetic diagnosis; genetic variant pathogenicity.

## **Introduction**

Sudden cardiac death (SCD) in adults is mainly caused by coronary artery disease, while in young people (1 to 35 years old) it has a variety of causes without a clear predominance of any etiology [1]. The most common causes of SCD in pediatric patients and young adults are: (i) cardiomyopathies, such as hypertrophic cardiomyopathy or arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy; (ii) congenital anomalies of the coronary arteries; (iii) myocarditis; (iv) congenital heart disease; and (v) primary arrhythmia syndromes, such as Brugada syndrome or long QT syndrome. SCD is often the first clinical presentation of these conditions, which makes identification, screening, and risk stratification crucial to avoid further deaths [1,2].

SCD is a major cause of death in Western countries and represents 80 to 90% of sudden deaths in adults. Although its incidence varies across different studies and ages, it is estimated that the incidence of SCD in the general population is 40 to 100 per 100,000 individuals, but in young people it has an incidence of 1 to 3 per 100,000 individuals per year [3].

In Brazil, the incidence of SCD in the population of the metropolitan area of São Paulo is 21 thousand people every year [4], so the projection of these findings for the whole Brazilian population would mean about 366,613 cases of SCD per year, an incidence similar to US estimates [5]. In a recent study where 900 Brazilian SCD cases aged between 10 and 80 years were evaluated [6], 21% showed structural heart disease, representing the second most important risk factor for SCD, after systemic arterial hypertension. Taking into account that the incidence of SCD is superior to deaths from all types of cancer and nearly two times higher than deaths from external causes (accidents, poisoning, murder, suicide, etc.), it becomes fundamental to develop specific actions in order to reduce this worrying epidemiological data. Although the incidence in young population is much smaller, many times implies a great impact on families, as often occurs in apparently healthy individuals.

Cardiomyopathies and primary arrhythmia syndromes are the most studied entities in young SCD. They are Mendelian diseases, generally showing autosomal dominant inheritance, in which the list of genes and mutations described continues to grow.

The genetic basis of SCD was investigated in a sample of the São Paulo population. A massive parallel sequencing (MPS) strategy was used to improve the diagnosis and prevention of inherited diseases at risk of SCD in both, affected patients and their relatives. The success of the strategy in terms of discovery and interpretation of variants is discussed.

## Methods

### *Patients*

Patients (n=81) diagnosed of inherited cardiac disease were recruited at the Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia in São Paulo city (Brazil). Specifically, patients were diagnosed with hypertrophic cardiomyopathy (HCM, n=42), dilated cardiomyopathy (DCM, n=3), arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC, n=2), left ventricular non compactation (LVNC, n=3), long QT syndrome (LQTS, n=8), Brugada syndrome (BrS, n=12). Eleven cases showed unclear diagnosis but suffered from arrhythmias, dyspnoea or syncope and 2 of them were recovered from a cardiac arrest. Diagnosis and follow-up of patients were based on available guidelines [7,8]. Table 1 shows the studied cases with demographic and clinical data. Data from 34 relatives of 9 index cases were also obtained.

The research related to human use has been complied with all the relevant national regulations, institutional policies and in accordance the tenets of the Helsinki Declaration, and has been approved by the authors' institutional review board. Informed consent was obtained from all individuals included in this study.

Genomic DNA was extracted from blood using QIAamp DNA blood Maxi kit (Qiagen, Hilden, Germany) following manufacturer's protocols. Quality and quantity of extracted DNA were assessed with Qubit® dsDNA BR assay (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and NanoDrop™ 1000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific). DNA integrity was determined by 0.8% agarose E-Gel electrophoresis (Invitrogen), although Agilent DNA 7500 Kit and Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) were used when DNA was more degraded.

### *Gene selection*

Genes related with cardiac inherited diseases with risk of sudden death were selected to be studied through MPS. We initially started with only primary arrhythmogenic syndrome genes, then we extended to structural cardiomyopathies and as new genes were being described in the literature, the panel of genes was updated to the current version with 96 genes. The distribution of genes in the targeted panels used is shown in Supplementary Table 1.

### *Targeted resequencing*

Four targeted MPS panels were used according to the diagnosis of the patient and the date on which it was incorporated into the study (Supplementary Material: Table 1 and Table 2). Eleven samples were initially analyzed for 28 genes with the arrhythmogenic panel described by Brion et al [9], 20 samples were analyzed for 81 genes, 45 samples were analyzed for an updated resequencing panel of 86 genes, both described by Santori et al [10], and 5 samples were analyzed for the last version of the resequencing panel with 96 genes. According to the manufacturer, exonic regions were enriched using SureSelectXT Custom Target Enrichment System Kit (Agilent Genomics, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) and subsequently sequenced in a 5500xl SOLiD™ System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), with the exception of the panel of 96 genes which was sequenced in an Ion Proton™ System (Thermo Fisher Scientific). Sanger sequencing by capillary electrophoresis was used as alternative technology to confirm putative causal variants detected by MPS and to perform segregation analysis in family members.

### ***Sequencing data analysis***

Sequence alignment, base quality score recalibration, local realignment, variant calling and variant annotation were performed as previously described [9,10]. Variant prioritization was performed based on:

- Functional impact on the protein- selecting genetic changes in splicing or exonic regions that generate non-synonymous or frameshift variants, or generate loss or gain of a stop codon.
- Allele frequency estimates- selecting genetic variants not described in the Exome Sequencing Project (Exome Variant Server, NHLBI GO Exome Sequencing Project, Seattle, WA; URL: <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) or showing a frequency lower than the prevalence of the disease considered.

Available online databases for allele frequency, conservation score, and in silico pathogenic prediction tools, were probed for prediction of pathogenicity of the variants found. The web resource, Atlas of Cardiac Genetic Variation (<http://cardiodb.org/ACGV>) was used to help in the variant interpretation.

## **Results**

### ***Study population***

Clinical data from 81 unrelated index cases are shown in Table 1. Mean age of the patients was 39.9 years and approximately half of them were male (n=43, 53.09%). Most of the index cases showed a clear diagnosis (42 HCM, 12 BrS, 8 LQTS, 3 DCM, 3 LVNC and 2 ARVC) while 11 of them were included in the study because they showed arrhythmias, in some cases with additional symptoms or family history of sudden cardiac death or heart disease. Sixty-four patients (79.01%) were symptomatic, including 34 (41.97%) who suffered from syncope and 9 (11.11%) who were recovered from a cardiac arrest or SCD. Thirty-seven (45.68%) had a family history of cardiac arrest or SCD.

### ***Mutation yield and analysis***

On target average depth of coverage across samples was  $567.53\times$  and average percent of target base-pairs covered at least  $20\times$  was 98.53%. Differences among the several targeted gene panels used are shown in Table 2.

Overall, 216 putative pathogenic rare variants were identified in 72 patients. Among them, 48 patients showed a total of 78 variants located in genes associated with the pathology or symptoms present in the patient (Supplementary Table 2), representing 59% of the patients with a positive genetic finding in genes related with their own pathology. Table 3 shows the success of the strategy for finding gene-related variants and pathogenic or likely pathogenic variants, according to the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) recommendations [11], in each of the patient groups studied.

Looking at the results in depth, if we consider all the gene related variants, the most effective results were obtained with LQTS, where 75% of the patients showed genetic variants that may be responsible for the pathology. However, when we use more stringent filters, such as the ACMG standards and guidelines [11], to consider a variant pathogenic, the greatest diagnostic success was obtained in HCM (14/42 probands) and in DCM (1/3 probands),

although the number of patients studied in this last category is very low and therefore not representative.

More detailed information about the prioritized variants is shown in Supplementary Table 2, including information about their presence or absence in the major databases, conservation values and *in silico* prediction values for pathogenicity. All the evidence available for each variant was used for classifying the variants in the five categories proposed by the ACMG: pathogenic, likely pathogenic, uncertain significance (VUS), likely benign and benign.

Considering only the prioritized variants, we found 16 likely benign variants, 41 VUS, 3 likely pathogenic variants and 18 variants considered as pathogenic. Within this last category, the majority (11 variants) were found in genes of hypertrophic cardiomyopathy (MYH7 and MYBPC3).

### ***Family screening***

Seven of the index cases with available relatives in the study showed genetic variants associated with their phenotypes, so family screening was carried out in a total of 32 samples belonging to 7 families (Figure 1). Genetic diagnosis was confirmed in 4 of the families (pedigrees 23, 34, 59 and 62), since co-segregation of the genetic variant with the disease was complete. In two of the families (pedigrees 9 and 65) the involvement of the genetic variants found was ruled out due to the lack of co-segregation with the disease; and in one family (pedigree 54) a variant of uncertain significance in the RYR2 gene was left as questionable, because only one non affected relative of the index case, non carrier of the variant was available.

### **Discussion**

Inherited cardiac diseases represent one of the most important causes of SCD in young adults. This great category includes mainly cardiomyopathies, channelopathies or primary arrhythmia syndromes and aortopathies, most of them showing autosomal dominant inheritance with variable penetrance and expressivity.

Progress in genetic technology over the last years revealed an increasingly polygenic basis of these cardiac diseases, some of them showing a direct relationship between the gene or the mutation present and the prognosis or disease development. This advance in knowledge has led to the establishment of international recommendations on genetic studies in inherited cardiac diseases, being in most of them a recommendation of Class I; and, on the other hand, the expansion of the use of panels of genes analyzed by MPS in many laboratories.

The latest published guidelines for cardiac genetic screening [12,7,13] recommend genetic testing (Class I recommendation) when there is a clinical diagnosis of HCM, DCM with cardiac conduction disease and /or family history of SCD and diagnosis of familial thoracic aortic aneurysms or dissections (TAAD), and also when there is a clinical suspicion of LQTS or CPVT. Recommendations also established that genetic testing can be useful (recommendation Class IIa) when there is a clinical suspicion of BrS or a clinical diagnosis of ARVC or LVNC.

According to Pua et al [14], coverage of some inherited cardiac diseases genes using whole exome sequencing is not enough for accurate variant calling, while a targeted gene panel optimized and validated would be the strategy of choice for proper detection of variants. The inclusion of a high number of genes in the panel increases probabilities to find variants meeting

the requirements of filtering based on likelihood of pathogenicity. However, if we focus only in genes associated with each of the pathologies, the number of variants is reduced significantly.

We have evaluated the application of targeted gene sequencing in a cohort of 81 individuals diagnosed of inherited cardiac diseases. Considering only the genes related with the studied disease, 48 individuals showed putative mutations involved in the disease. Success of the strategy for finding gene-related variants varies between 0% and 75% in ARVC and LQTS group of patients respectively.

In a stricter way, if we consider the recommendations of the ACMG for the interpretation of sequence variants [11], 16 of the 78 gene-related variants can be considered as likely benign, and 41 remain as variants of uncertain significance (VUS), due to the lack of information or conflicting pathogenicity classification in the consulted databases. Interestingly, 21 individuals showed one pathogenic or likely pathogenic genetic variant (Supplementary Table 2), and HCM and DCM became the group with higher percentage of individuals with likely causal genetic variants.

Among the HCM patients, 14 of them showed pathogenic or likely pathogenic variants representing a success rate of the genetic test of 33%. This success rate increases to 40% when only HCM patients with family history of SCD are considered and still increases more, up to 61% (8 of 13 patients), if we restrict to HCM patients with family history of heart disease.

At the gene level, if we look the variants at the MYH7 gene, our results confirm the findings of Walsh et al [15] about the interpretation of variants using the protein domain information. Ten variants classified as pathogenic or likely pathogenic in our study are located between the residues 181 and 937, as the mutation cluster found in the HCM cases of the Walsh et al study.

MPS technology allows us to detect these variants quickly and reliably, however the main handicap that arises is the interpretation of these variants and their classification as pathogenic or potentially pathogenic. Since the available information about the implication of the described gene variants with the inherited diseases is not robust [15], special caution should be considered for the interpretation of MPS studies. Frequency of variants in extensive databases, such as the ExAC consortium, is really helpful to rule out causality of those rare variants, with a frequency higher than the published disease prevalence. Bioinformatic tools allowing calculating likelihood of causality based on several in silico predictors of pathogenicity, level of conservation among species, previous published studies and all information that could shed light, are necessary for the proper interpretation of the data and for the implementation of MPS genetic diagnosis of inherited heart diseases.

HCM is the hereditary disease in which we observed a better performance of the genetic study. Therefore, as the HCM is one of the leading risk factors for SCD [6], especially in young adults, the application of MPS in the affected patients and cascade screening in the first degree family members would allow to identify at risk individuals and consequently, it would greatly reduce the incidence of SCD in this age group.

**Sources of funding:** This work was supported by the Plan Estatal de I+D+i 2008-2011 and 2013-2016, Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación (ISCIII-SGEFI) from Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)



[grant numbers PI13/00933, RD12/0042/0037] and the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo [grant numbers FAPESP 2011/12656-2).

**Disclosures:** The authors declare that they have no conflict of interest

**Human subjects/informed consent statement:** All procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Informed consent was obtained from all patients for being included in the study.

## References

1. Bagnall, R. D., Weintraub, R. G., Ingles, J., Duflou, J., Yeates, L., Lam, L., et al. (2016). A Prospective Study of Sudden Cardiac Death among Children and Young Adults. *N Engl J Med*, 374(25), 2441-2452, doi:10.1056/NEJMoa1510687.
2. Behr, E. R., Dalageorgou, C., Christiansen, M., Syrris, P., Hughes, S., Tome Esteban, M. T., et al. (2008). Sudden arrhythmic death syndrome: familial evaluation identifies inheritable heart disease in the majority of families. *Eur Heart J*, 29(13), 1670-1680, doi:10.1093/eurheartj/ehn219.
3. Hayashi, M., Shimizu, W., & Albert, C. M. (2015). The spectrum of epidemiology underlying sudden cardiac death. *Circ Res*, 116(12), 1887-1906, doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.304521.
4. Martinelli, M., Siqueira, S. F., Zimmerman, L. I., Neto, V. A., Moraes, A. V., Jr., & Fenelon, G. (2012). Sudden cardiac death in Brazil: study based on physicians' perceptions of the public health care system. *Pacing Clin Electrophysiol*, 35(11), 1326-1331, doi:10.1111/j.1540-8159.2012.03501.x.
5. Chugh, S. S., Reinier, K., Teodorescu, C., Evanado, A., Kehr, E., Al Samara, M., et al. (2008). Epidemiology of sudden cardiac death: clinical and research implications. *Prog Cardiovasc Dis*, 51(3), 213-228, doi:10.1016/j.pcad.2008.06.003.
6. Braggion-Santos, M. F., Volpe, G. J., Pazin-Filho, A., Maciel, B. C., Marin-Neto, J. A., & Schmidt, A. (2015). Sudden cardiac death in Brazil: a community-based autopsy series (2006-2010). *Arq Bras Cardiol*, 104(2), 120-127, doi:10.5935/abc.20140178.
7. Authors/Task Force, m., Elliott, P. M., Anastasakis, A., Borger, M. A., Borggrefe, M., Cecchi, F., et al. (2014). 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 35(39), 2733-2779, doi:10.1093/eurheartj/ehu284.
8. Priori, S. G., Wilde, A. A., Horie, M., Cho, Y., Behr, E. R., Berul, C., et al. (2013). HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes: document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013. *Heart Rhythm*, 10(12), 1932-1963, doi:10.1016/j.hrthm.2013.05.014.
9. Brion, M., Blanco-Verea, A., Sobrino, B., Santori, M., Gil, R., Ramos-Luis, E., et al. (2014). Next generation sequencing challenges in the analysis of cardiac sudden death due to arrhythmogenic disorders. *Electrophoresis*, 35(21-22), 3111-3116, doi:10.1002/elps.201400148.
10. Santori, M., Blanco-Verea, A., Gil, R., Cortis, J., Becker, K., Schneider, P. M., et al. (2015). Broad-based molecular autopsy: a potential tool to investigate the involvement of subtle cardiac conditions in sudden unexpected death in infancy and early childhood. *Arch Dis Child*, 100(10), 952-956, doi:10.1136/archdischild-2015-308200.

11. Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., et al. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*, 17(5), 405-423, doi:10.1038/gim.2015.30.
12. Ackerman, M. J., Priori, S. G., Willems, S., Berul, C., Brugada, R., Calkins, H., et al. (2011). HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm*, 8(8), 1308-1339, doi:10.1016/j.hrthm.2011.05.020.
13. Erbel, R., Aboyans, V., Boileau, C., Bossone, E., Bartolomeo, R. D., Eggebrecht, H., et al. (2014). 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 35(41), 2873-2926, doi:10.1093/eurheartj/ehu281.
14. Pua, C. J., Bhalshankar, J., Miao, K., Walsh, R., John, S., Lim, S. Q., et al. (2016). Development of a Comprehensive Sequencing Assay for Inherited Cardiac Condition Genes. *J Cardiovasc Transl Res*, 9(1), 3-11, doi:10.1007/s12265-016-9673-5.
15. Walsh, R., Thomson, K. L., Ware, J. S., Funke, B. H., Woodley, J., McGuire, K. J., et al. (2016). Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. *Genet Med*, doi:10.1038/gim.2016.90.

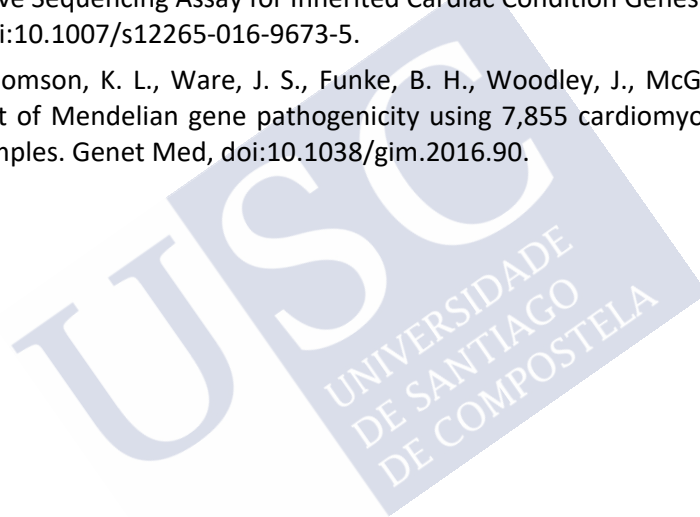
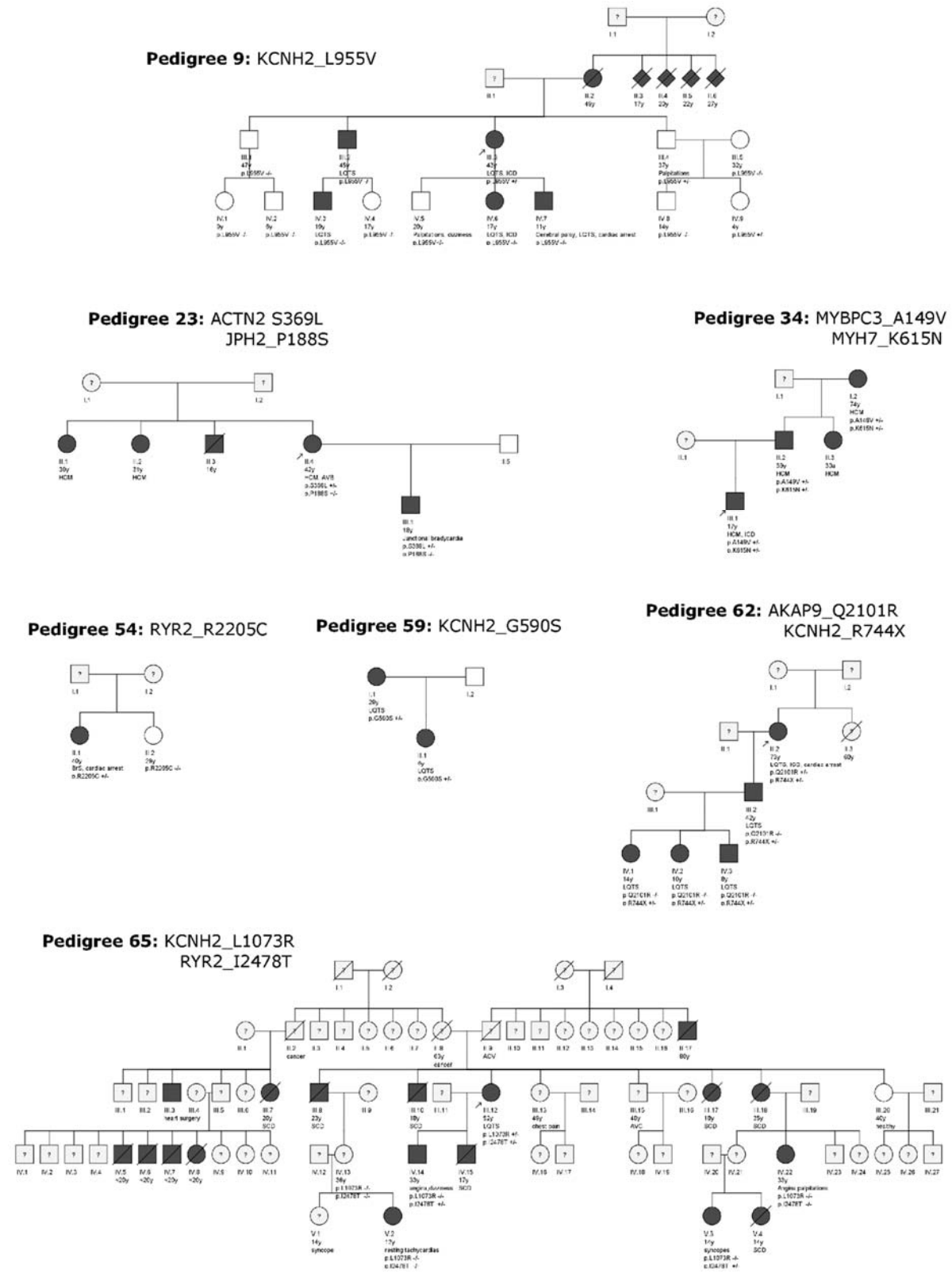




FIGURE 1.



## FIGURE LEGENDS

Fig 1. Pedigree of familiar cases. Each pedigree shows the segregation of the variants found in the probands of each family. Probands are indicated with an arrow.



**Table 1.** Clinical characteristics of index cases.

	Overall	HCM	DCM	LVNC	ARVC	BrS	LQTS	Arrhythmias
<b>Patient demographics</b>								
Number of probands	81	42	3	3	2	12	8	11
Family history of heart disease	28	13	0	1	2	4	3	5
Family history of SCD	37	20	1	0	1	6	5	4
Average Age	39.9	41.55	50	24.67	40	47.42	36.25	27
Male	43	26	2	0	1	9	1	4
Female	38	16	1	3	1	3	7	7
With CDI	35	21	2	0	0	5	3	4
With pacemaker	4	3	0	0	0	1	0	0
<b>Symptoms</b>								
Asymptomatic	17	8	0	1	1	5	2	0
Dyspnoea	39	25	3	2	0	1	2	6
Chest pain	24	15	0	2	1	1	2	3
Palpitations	44	25	1	2	1	5	3	7
Dizziness	39	22	3	1	0	2	5	6
Syncope	34	15	2	2	1	3	4	7
Aborted cardiac arrest	9	4	0	0	0	1	2	2
BAVT	1	0	0	0	0	0	0	1

**Table 2.** Targeted gene panels and quality metrics.

<b>Genes considered in the assay</b>	<b>Samples analyzed</b>	<b>Mean target coverage</b>	<b>% of target bases covered &gt;20X</b>
28	11	934.30	97.18%
81	20	708.55	99.41%
86	45	511.82	98.89%
96	5	260.15	98.89%



**Table 3.** Success of genetic testing in terms of likely causative variants.

	HCM	DCM	LVNC	ARVC	LQTS	BrS	Arrhythmia	Total
Probands studied	42	3	3	2	8	12	11	81
Probands with gene related variants (%)	27 (64.29)	2 (66.67)	2 (66.67)	0 (0.00)	6 (75.00)	6 (50.00)	5 (45.45)	48 (59.26)
Probands with pathogenic or likely pathogenic variants according to ACMG (%)	14 (33.33)	1 (33.33)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (25.00)	1 (8.33)	3 (27.27)	21 (25.93)



#### ARTÍCULO 4: GENETIC SUSCEPTIBILITY IN PHARMACODYNAMIC AND PHARMACOKINETIC PATHWAYS UNDERLYING DRUG-INDUCED ARRHYTHMIA AND SUDDEN UNEXPLAINED DEATHS.

Marina Martínez-Matilla, Alejandro Blanco-Verea, Montserrat Santori, Juan Ansede-Bermejo, Eva Ramos-Luis, Rocío Gil, Ana María Bermejo, Francisco Lotufo-Neto, Mario H. Hirata, Francesca Brisighelli, Mario Paramo, Ángel Carracedo, María Brion

Forensic Sci Int Genet. 42:203-212; 2019 Sep;doi:10.1016/j.fsigen.2019.07.010

##### Abstract:

Drug-induced arrhythmia is an adverse drug reaction that can be potentially fatal since it is mostly related to drug-induced QT prolongation, a known risk factor for Torsades de Pointes and sudden cardiac death (SCD). Several risk factors have been described in association to these drug-induced events, such as preexistent cardiac disease and genetic variation. Our objective was to study the genetic susceptibility in pharmacodynamic and pharmacokinetic pathways underlying suspected drug-induced arrhythmias and sudden unexplained deaths in 32 patients. The genetic component in the pharmacodynamic pathway was studied by analysing 96 genes as-associated with higher risk of SCD through massive parallel sequencing. Pharmacokinetic-mediated genetic susceptibility was investigated by studying the genes encoding cytochrome P450 enzymes using medium-throughput genotyping. Pharmacodynamic analysis showed three probably pathogenic variants and 45 variants of uncertain significance in 28 patients, several of them previously described in relation to mild or late onset cardiomyopathies. These results suggest that genetic variants in cardiomyopathy genes, in addition to those related with channelopathies, could be relevant to drug-induced cardiotoxicity and contribute to the arrhythmogenic phenotype. Pharmacokinetic analysis showed three patients that could have an altered metabolism of the drugs they received involving CYP2C19 and/or CYP2D6, probably contributing to the arrhythmogenic phenotype. The study of genetic variants in both pharmacodynamic and pharmacokinetic pathways may be a useful strategy to understand the multifactorial mechanism of drug-induced events in both clinical practice and forensic field. However, it is necessary to comprehensively study and evaluate the contribution of the genetic susceptibility to drug-induced cardiotoxicity.

##### Resumen:

La arritmia inducida por fármacos es una reacción adversa que puede ser potencialmente mortal ya que se relaciona principalmente con prolongación del intervalo QT inducido por fármacos, factor de riesgo de *Torsades de Pointes* y muerte súbita cardíaca (MSC). Se han descrito varios factores de riesgo asociados a estos eventos, como enfermedades cardíacas preexistentes y factores genéticos. Nuestro objetivo fue estudiar la susceptibilidad genética en las vías farmacodinámicas y farmacocinéticas en 32 pacientes con sospecha de arritmia o muerte súbita inexplicable inducidas por fármacos. El componente genético de la vía farmacodinámica se estudió mediante el análisis de 96 genes asociados con riesgo de MSC mediante secuenciación masiva. La susceptibilidad genética en la vía farmacocinética se investigó mediante el estudio de los genes que codifican las enzimas del citocromo P450 utilizando genotipado de medio rendimiento. El análisis farmacodinámico mostró tres variantes probablemente patogénicas y 45 variantes de significado incierto en 28 pacientes, varias de ellas previamente asociadas con miocardiopatías con fenotipo leve o de inicio tardío. Estos resultados sugieren que las variantes genéticas en los genes de miocardiopatías, además de las relacionadas con canalopatías, podrían ser relevantes en la cardiotoxicidad inducida por fármacos y contribuir al fenotipo arritmogénico. El análisis farmacocinético mostró tres



pacientes que podrían tener un metabolismo alterado de CYP2C19 y / o CYP2D6, probablemente contribuyendo al fenotipo arritmogénico. El estudio de variantes genéticas tanto en vías farmacodinámicas como farmacocinéticas puede ser una estrategia útil para comprender el mecanismo multifactorial de los eventos inducidos por fármacos tanto en la práctica clínica como en el campo forense. Sin embargo, es necesario continuar estudiando estos eventos para conocer mejor la contribución de la susceptibilidad genética a la cardiotoxicidad inducida por fármacos.

#### **Contribuciones principales de la doctoranda en el ARTÍCULO 4:**

- Revisión bibliográfica
- Definición de criterios de inclusión de casos
- Creación y actualización de la base de datos
- Revisión, búsqueda y selección de muestras
- Extracción de ADN, cuantificación, determinación de grado de pureza y determinación de integridad de ácidos nucleicos
- Procesamiento de muestras para su posterior estudio mediante secuenciación masiva y genotipado de medio rendimiento
- Análisis e interpretación de variantes de secuenciación masiva y haplotipos resultantes del genotipado
- Confirmación de variantes candidatas y estudio de regiones mal cubiertas mediante secuenciación Sanger: diseño de *primers* para regiones diana, amplificación ADN mediante PCR, purificación, secuenciación y análisis de secuencias
- Redacción y posteriores modificaciones del artículo.



# **DISCUSIÓN GENERAL**





## DISCUSIÓN GENERAL

Con base en los objetivos planteados en el presente trabajo, hemos dividido la discusión en dos grandes bloques, uno centrado en la evaluación de la secuenciación masiva como herramienta de estudio y diagnóstica de cardiopatías familiares, tanto en la práctica clínica como en la forense, y otro gran bloque centrado en el abordaje farmacogenético de las arritmias inducidas por fármacos, con especial consideración a las arritmias inducidas por antipsicóticos y antidepresivos.

### EVALUACIÓN DE LA SECUENCIACIÓN MASIVA COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA DE CARDIOPATÍAS FAMILIARES

Las técnicas de secuenciación masiva permiten la secuenciación del genoma completo, el exoma completo y amplias baterías de genes de una forma rápida, fiable y coste-efectiva. Esto ha permitido que, en pocos años, la secuenciación masiva se haya implementado en la práctica clínica para estudiar las causas genéticas de enfermedades que requieren analizar un número elevado de genes, como es el caso de las cardiopatías familiares y adquiridas. La rápida evolución de estas técnicas permite, actualmente, estudiar un gran número de *loci* partiendo de una pequeña cantidad de ADN. Esta particularidad supuso un avance importante también en la patología forense donde, muchas veces, la cantidad de muestra es una parte limitante del proceso. El uso de la secuenciación masiva como herramienta de autopsia molecular se ha convertido en fundamental, principalmente en el estudio de la MSC sin causa identificada en menores de 40 años, ya que las causas principales son cardiopatías familiares con un alto componente genético. Como se ha descrito a lo largo de esta tesis, son muchos los genes asociados con estas patologías y, dada su heterogeneidad y solapamiento clínico y genético, el estudio genético mediante secuenciación Sanger resultaría caro, tedioso e inviable, incluso si el análisis se limitara a los genes recientemente recomendados por las guías internacionales [97].

Muchas cardiopatías familiares son grandes desconocidas, hay que tener en cuenta que, por ejemplo, el síndrome de Brugada se describió en 1992, o que el síndrome de QT corto apenas se ha podido estudiar con grandes cohortes por su baja prevalencia. En paralelo, el rápido avance de las técnicas de secuenciación masiva permite que haya varias alternativas en el mercado que se adaptan según el estudio que quiera llevarse a cabo. Sin embargo, aunque cada vez esté más presente, la secuenciación masiva aún no está disponible en todos los centros y no existe un protocolo internacional avalado para estudios genéticos *post mortem*. Con la rapidez con la que evoluciona la secuenciación masiva en cuanto a equipos, protocolos de preparación de las muestras, técnicas, etc., es una tarea difícil estandarizar y validar los protocolos de secuenciación masiva, y más en muestras forenses. Por ello, validar distintas estrategias de estudio genético por parte de la comunidad científica es esencial para abordar con éxito el estudio de las bases moleculares que subyacen en la MSC. Esto supone que equipos especializados tengan que dedicar un gran esfuerzo al continuo reciclaje del conocimiento científico sobre ellas, tanto en investigación como en diagnóstico.

En este aspecto, el objetivo principal de los ARTÍCULOS 1, 2 y 3, era la evaluación de la secuenciación masiva como herramienta diagnóstica de cardiopatías familiares en el contexto de la MSC. Ya se habían publicado artículos con pequeñas cohortes de individuos fallecidos que demostraban el potencial diagnóstico de las técnicas de secuenciación masiva en la investigación medicolegal de la MSC, sobre todo a la hora de estudiar las posibles causas de

muerte en individuos sin causa de muerte identificada, con autopsia blanca y corazón estructuralmente normal. Los resultados eran prometedores ya que, si el estudio genético resultaba positivo, se extendía a familiares y, tras un *screening* clínico y genético, se podían establecer intervenciones preventivas y aumentar el número de pacientes beneficiados. En 2007, Tester *et al.* estudiaron ocho genes asociados a SQT1-8 en 49 casos de SUD, mostrando que alrededor de un tercio de los pacientes tenían variantes en genes que codificaban proteínas de los canales iónicos, lo que sugería que las canalopatías podrían ser causantes de un importante número de muertes súbitas cardíacas sin causa identificada [227]. Hasta el momento, la mayoría de los estudios genéticos en casos de SADS se centraban en el análisis de genes candidatos asociados a canalopatías por su naturaleza puramente arritmogénica, sin huella estructural, descartando *a priori* el análisis de genes que codifican proteínas estructurales. Solo unos pocos habían incluido los genes de miocardiopatías estructurales en su análisis [525].

En el ARTÍCULO 1 publicamos la validación de una nueva estrategia para el diagnóstico de síndromes arritmogénicos en la que incluimos genes de canalopatías y genes implicados en el desarrollo de MAVD, miocardiopatía estructural incluida por el sustrato arritmogénico que comporta. El estudio se validó en una cohorte de 53 individuos en la que se incluyeron casos *post mortem* de SUD y SIDS, y casos clínicos con diagnóstico de SQT1, SBr y MAVD. Los resultados fueron exitosos ya que la secuenciación masiva llevada a cabo en la plataforma 5500XL SOLID™ SYSTEM demostró ser una técnica sensible con una baja tasa de error. Se detectaron todas las variantes de los controles positivos que incluimos y se confirmaron por Sanger todas las variantes interpretadas excepto una, cuya calidad había resultado dudosa con una reducida profundidad de lectura. El estudio simultáneo de muestras forenses y clínicas nos permitía evaluar la estrategia con muestras *post mortem*, que muchas veces presentan limitaciones de calidad debido a la degradación del ADN. En este aspecto, la fragmentación mecánica nos permitió adaptar el protocolo al perfil de degradación del ADN, en especial de las muestras *post mortem*; con la captura como sistema de enriquecimiento obtuvimos buenos resultados de cobertura ya que en todas las muestras se obtuvo una profundidad de lectura media que superaba los criterios publicados, sin diferencias entre el grupo de las muestras forenses (más degradadas) y clínicas (de mejor calidad). En la literatura no existe un consenso claro de profundidad de lectura mínima que se necesita para detectar un cambio en el ADN frente a uno de referencia, sin embargo, suelen manejarse márgenes en torno al 20 o 30X, es decir, la posición debería secuenciarse como mínimo 20 o 30 veces para que la técnica fuera sensible y detectara un posible cambio. Solo una muestra mostró una profundidad media <30X (algo de esperar ya que se trataba de una muestra *post mortem* con un alto grado de degradación), por lo que resultó ser una estrategia útil para el estudio de muestras forenses con ADN parcialmente degradado.

El gran reto de trabajar con secuenciación masiva es procesar, almacenar, analizar y trasladar a la clínica la gran cantidad de información que se obtiene (ARTÍCULO 2). Del secuenciador se obtienen los datos “crudos” que se procesan mediante algoritmos informáticos, obteniéndose un listado de cambios con respecto al genoma de referencia (variantes) que se tienen que analizar. El análisis de todos esos datos implica la detección de un enorme número de variantes no relacionadas con el diagnóstico clínico, así como falsos positivos por la baja cobertura o mala calidad de secuenciación en algunas regiones. El primer paso es realizar un proceso de priorización para obtener un listado de variantes candidatas y así eliminar los cambios benignos, falsos o que no van a aportar información clínicamente útil (por ejemplo, variantes intrónicas fuera del sitio de *splicing* o de regiones reguladoras). Este proceso de priorización es un primer filtrado burdo que se realiza para descartar variantes y trabajar con un listado de variantes candidatas más manejable. En caso de trabajar con un exoma o un panel

que cubre distintas enfermedades, se hace un primer filtrado de genes candidatos asociados con la patología a estudio. A continuación, se utilizan filtros de calidad de las lecturas de secuenciación, frecuencia poblacional, localización de la variante en el gen, tipo de variante y consecuencia funcional del cambio. Una vez se cuenta con el listado de variantes candidatas, estas tienen que interpretarse para poder asignarles patogenicidad y ser clasificadas (benigna, probablemente benigna, variantes de significado incierto, probablemente patogénica o patogénica). Para hacernos una idea, tras secuenciar el panel de 28 genes asociados a síndromes arritmogénicos del ARTÍCULO 1 en 52 muestras, se detectaron un total de 10 430 cambios genéticos con respecto a la secuencia de referencia que, tras el proceso de filtrado, se redujeron a 51 variantes candidatas (Tabla 2, ARTÍCULO 1).

Las variantes candidatas actualmente se interpretan y clasifican de acuerdo con su patogenicidad según los criterios recomendados por la ACMG/AMP. Cuando se llevó a cabo el ARTÍCULO 1, estas guías no se habían publicado y no existía un consenso avalado por expertos con criterios estandarizados, sin embargo, en la literatura se podían encontrar propuestas similares de diferentes autores para clasificar las variantes [526], [527]. En nuestro estudio, se interpretaron 51 variantes candidatas, 13 (25,5%) de las cuales fueron clasificadas como probablemente patogénicas en 11 pacientes, 14 (27,5%) como VUS en nueve individuos, y el resto como benignas o probablemente benignas (47%) (Tabla 1 suplementaria, ARTÍCULO 1). Si aplicamos las guías actuales de la ACMG/AMP a esas mismas variantes, obtenemos: cinco (9,8%) probablemente patogénicas en cuatro pacientes, 20 (39,2%) VUS y el resto benignas o probablemente benignas (50,9%), de forma que: dos VUS han pasado a clasificarse benignas por su frecuencia poblacional, una VUS a probablemente patogénica, y nueve probablemente patogénicas se clasificarían como VUS por los criterios más restrictivos aplicados. Esta diferencia en la clasificación de las variantes evidencia varios hándicaps de la interpretación de los datos genéticos en las cardiopatías familiares. El primero es la incertidumbre de las variantes genéticas previamente clasificadas como patogénicas en la literatura. Con el uso extendido de la secuenciación masiva se han hecho grandes esfuerzos para publicar extensas bases de datos poblacionales con secuencias de miles de exomas y genomas a disposición de la comunidad científica, como: 1000 Genomes Project (<https://www.internationalgenome.org/>), Exome Variant Server (NHLBI Exome Sequencing Project; <https://evs.gs.washington.edu/EVS/>), o gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>), entre otras. La información pública de las frecuencias alélicas en población general y de distinto origen geográfico demostró, por ejemplo, que variantes consideradas raras hasta ese momento resultarían frecuentes en cohortes de individuos sanos. Esto cuestionó la causalidad de muchas variantes y genes sin una evidencia sólida y resultó en un gran número de variantes previamente interpretadas como patogénicas que no lo eran realmente [95]. A esto se le sumaba la falta de criterios estandarizados para clasificar las variantes, que provocaba discrepancias en la asignación de la patogenicidad. Sin embargo, actualmente, aun con los criterios recomendados por la ACMG/AMP y continuamente revisados por la “*Association for Clinical Genomic Science*” (ACGS, <https://www.acgs.uk.com/quality/best-practice-guidelines/>), cabe una parte de subjetividad inherente a la interpretación que marca diferencias entre laboratorios a la hora de clasificar algunas variantes. Por ello y por la continua evolución en el conocimiento de las bases moleculares de las enfermedades son tan necesarios los estudios funcionales y los estudios de cosegregación en las familias, así como la reevaluación periódica de las variantes dudosas y los casos negativos.

Por otro lado, los resultados del ARTÍCULO 1 y del ARTÍCULO 3, en los que se detectaron un 39,2% y un 52,6% de variantes inciertas, respectivamente, ponen de manifiesto la presencia de gran cantidad de variantes inciertas al trabajar con datos de secuenciación



masiva. Este sigue siendo uno de los desafíos con los que se sigue lidiando en la actualidad (ARTÍCULO 2). Hay varios factores que dificultan la interpretación biológica de las variantes genéticas obtenidas. En las cardiopatías familiares en particular, la mayoría se han ido describiendo a lo largo de esta tesis: 1) muchos de los mecanismos moleculares fisiopatológicos que subyacen en estas cardiopatías son aún desconocidos; 2) al aplicar filtros de frecuencia poblacional según la prevalencia de la enfermedad, las variantes candidatas son raras, muchas veces no están descritas y la mayoría son “privadas” o propias de la familia que se estudia, lo cual hace haya poca o ninguna información sobre ellas en la literatura científica (estudios de cosegregación, estudios funcionales, fenotipo de otros pacientes portadores del mismo cambio, etc.); 3) la dificultad de interpretar variantes comunes (normalmente asociadas con penetrancia incompleta) que pueden modificar el fenotipo y tener un papel importante en la toma de decisiones clínicas; 4) la complejidad a la hora de interpretar la heterocigosidad compuesta y la posible herencia poligénica de las cardiopatías familiares; 5) en muestras forenses, la falta de un diagnóstico claro y, en algunos casos, la ausencia de historia clínica y familiar. Todas ellas son dificultades añadidas que complican la interpretación en las cardiopatías familiares, además del solapamiento clínico y genético, la penetrancia incompleta y la expresividad variable. Como consecuencia, un gran número de variantes son clasificadas como inciertas y no pueden ser utilizadas con valor clínico predictivo de enfermedad, considerándose resultados negativos o no concluyentes. En nuestro estudio, un 39% de las variantes interpretadas se clasificaron como VUS y, aunque identificamos 20 de 52 individuos portadores de variantes que podían estar implicadas en la enfermedad, solo cuatro (~8%) obtuvieron un resultado positivo clínicamente accionable.

Como era de esperar, el rendimiento diagnóstico fue mayor en muestras de pacientes con diagnóstico clínico con respecto a las muestras forenses: se identificó la mutación causal en un 20%, 0% y 22% de pacientes para MAVD, SBr y SQT, respectivamente, frente al 0% en SUD y SIDS (tabla 3, ARTÍCULO 1). Actualmente el rendimiento diagnóstico de estas cardiopatías es de un 30-58% de pacientes con MAVD, 30% en SBr y 86% en el caso de SQT. Es difícil comparar los rendimientos del ARTÍCULO 1 con los actuales puesto que las técnicas de secuenciación y análisis bioinformático se han optimizado y se han descubierto nuevos genes desde entonces. Otros estudios coetáneos, como el de Bagnall *et al.*, mostraban rendimientos más altos (~30%), sin embargo, este dato podría estar sobreestimado ya que para calcularlo incluyen casos con variantes “clínicamente relevantes”, basándose solo en la frecuencia alélica y la predicción de patogenicidad *in silico* [525], [528]. En nuestra cohorte, seis casos de SUD (46%) y dos de SIDS (40%) son portadores de variantes clasificadas como inciertas en genes asociados con canalopatías que podrían estar implicadas en la enfermedad.

Por definición, SADS y SIDS son diagnósticos por exclusión, es decir, casos en los que, tras una exhaustiva investigación medicolegal, no se identifica causa de muerte y el individuo tiene el corazón estructuralmente normal tras un estudio macroscópico e histológico. Uno de los objetivos del ARTÍCULO 1 era la búsqueda de mutaciones causales de síndromes arritmogénicos en la cohorte y por ello no se incluyeron genes de miocardiopatías como la hipertrófica o la dilatada. Este podría ser uno de los motivos del rendimiento bajo en el caso de SIDS y SUD ya que los trabajos realizados con casos de SUD y SIDS muestran un gran número de variantes en genes relacionados con miocardiopatías [458]. Nuestro grupo ha analizado con éxito, mediante genotipado, 680 mutaciones en 16 genes asociados con MCH en una cohorte de 26 casos de SIDS, en la cual se detectaron 9 variantes raras en 10 casos, 7 de ellas en *MYBPC3* [529]. Posteriormente, publicamos un estudio en el que se identificó aproximadamente un 80% de portadores de variantes raras en genes de proteínas estructurales en una cohorte de 41 casos de SIDS y SADS en la que analizaron mediante secuenciación

masiva más de 80 genes asociados con MSC (paneles v.1 y 2 utilizados en el ARTÍCULO 3 y ARTÍCULO 4) [483]. Otros autores como Lahrouchi *et al.* incluyeron en el estudio genes asociados con otras miocardiopatías además de MAVD, analizando hasta un total de 77 genes y obteniendo un rendimiento diagnóstico del 13% en 302 casos de SADS, la mayor cohorte estudiada mediante secuenciación masiva hasta ese momento. En su análisis identificaron variantes patogénicas o probablemente patogénicas confirmadas con estudios de cosegregación familiar en 40 casos, 34 con variantes en genes de canalopatías (incluidos en nuestro estudio) y seis en genes de miocardiopatías (*TTN*, *PKP2*, *PLN* y *MYH7*), de los cuales solo *PKP2* estaba incluido en nuestro panel [530].

La estrategia nos permitió estudiar genotipos complejos, detectando posible heterocigosidad compuesta en hasta siete pacientes con dos variantes en diferentes genes. En cardiopatías familiares, la presencia de dos o más mutaciones en el mismo gen o genes diferentes suele asociarse a fenotipos más graves o de aparición temprana. En nuestra cohorte, un paciente era portador de dos mutaciones probablemente patogénicas, asociando fenotipo grave de MAVD, y otro paciente de una mutación probablemente patogénica y una VUS, con SQTl y paro cardíaco recuperado a las 70 horas de haber nacido.

Para nuestro grupo, la validación de la estrategia del ARTÍCULO 1 fue un punto de partida para la optimización del diagnóstico molecular de cardiopatías familiares mediante secuenciación masiva ya que nos sirvió para: 1) valorar la calidad de la secuenciación, sobre todo en cuanto a sensibilidad, en muestras clínicas y forenses parcialmente degradadas, 2) testar el nuevo panel diseñado por nosotros que incluía 28 genes asociados con síndromes arritmogénicos, 3) aumentar modestamente el rendimiento diagnóstico y 4) optimizar los recursos.

Desde el primer panel con 28 genes asociados con síndromes arritmogénicos que diseñamos para un primer abordaje mediante secuenciación masiva, se han descubierto nuevos genes y los costes de la secuenciación por base se han reducido considerablemente. Esto nos ha permitido diseñar nuevos paneles con más genes (ARTÍCULOS 2, 3 y 4) de cara a aumentar la rentabilidad diagnóstica. Comparando con el ARTÍCULO 1, obtuvimos mayor rendimiento diagnóstico en el trabajo presentado como ARTÍCULO 3 (datos no publicados) en el que analizamos hasta 96 genes mediante secuenciación masiva en una cohorte de 81 pacientes con cardiopatías familiares, incluyendo MCH, MCD, MCNC, MCA, SQTl, SBr y arritmias. Detectamos 78 variantes candidatas en 48 individuos, de ellos 21 (~26%) eran portadores mutaciones patogénicas o probablemente patogénicas. Mediante estudios de cosegregación familiar, conseguimos confirmar el papel causal de 6 mutaciones, 2 se descartaron como causales y una no pudo evaluarse puesto que solo se pudo estudiar un familiar. El mayor rendimiento diagnóstico se obtuvo en pacientes con MCH, en los que se identificó variante genética causal en el 33% de los pacientes. La MCH es una de las causas más frecuentes de MSC en el adulto joven, por lo que el estudio molecular de los pacientes afectados y sus familiares mediante secuenciación masiva es de gran utilidad para identificar individuos en riesgo y evitar futuros eventos fatales.

Las recomendaciones para el diagnóstico genético de las cardiopatías familiares se ciñen, principalmente, a los genes mayoritarios (Tabla 18). Si comparamos las recomendaciones publicadas recientemente con los genes de los paneles de los ARTÍCULOS 1, 3 y 4, el primer panel sí incluía todos los genes recomendados para el estudio de las canalopatías (*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNJ2*, *RYR2* y *CASQ2*), pero en cambio, no incluía los genes *DES*, *LMNA*, *PLN* y *TTN* recomendados actualmente para MAVD. La última versión del panel, sin embargo,

cubre todos los genes de canalopatías y miocardiopatías, excepto *RIT1* asociado más recientemente a MCH en síndrome de Noonan.

#### **ESTUDIO FARMACOGENÉTICO DE ARRITMIAS Y MUERTE SÚBITA CARDIACA INDUCIDAS POR ANTIPSICÓTICOS Y ANTIDEPRESIVOS**

El desarrollo de proarritmias o, en el peor de los casos, de muerte súbita cardíaca inducida por fármacos, ha resultado ser un problema de salud pública de gran importancia en los últimos años, provocando la retirada de muchos fármacos del mercado. El *Arizona Center for Education and Research on Therapeutics* (AZCERT) lista actualmente en Crediblemeds (<https://crediblemeds.org/>) más de 250 fármacos como posibles agentes arritmogénicos a través de la prolongación del intervalo QT y/o el desarrollo de *Torsades de Pointes*.

Las enfermedades psiquiátricas se caracterizan por la dificultad de conseguir un tratamiento adecuado para los pacientes. Las reacciones adversas o el fallo en la respuesta al tratamiento dificultan establecer un tratamiento óptimo [531], [532]. La respuesta a las terapias con antidepresivos y antipsicóticos es muy variable entre individuos y el mismo tratamiento puede resultar beneficioso en unos pacientes o provocar arritmias o TdP en otros. Como se ha ido describiendo en esta tesis, dicha variabilidad en la respuesta está influenciada por una gran variedad de factores: ambientales (dieta, hábito tabáquico), intrínsecos del fármaco (dosis, interacciones farmacológicas) o intrínsecos del paciente (patologías, condiciones fisiológicas, factores genéticos).

El sustrato genético que subyace en las canalopatías adquiridas inducidas por fármacos es objeto de estudio por el riesgo de proarritmia y MSC que presentan los pacientes, un evento muy peligroso, aunque poco común. De hecho, uno de los hándicaps del estudio farmacogenético presentado en el ARTÍCULO 4 fue la pequeña cohorte con la que contábamos. Resultó tremendamente difícil encontrar casos que cumplieran los criterios de inclusión que habíamos establecido. La cohorte de 32 pacientes es el resultado de un estudio multicéntrico en el que han participado centros de España, Brasil e Italia. La selección de los casos fue retrospectiva, tanto para las muestras forenses, como para las clínicas. Se revisaron informes forenses de un intervalo de ocho años y se seleccionaron aquellos casos de SUD en los que el estudio toxicológico detectó fármacos antipsicóticos o antidepresivos con concentración terapéutica en sangre. En el ámbito asistencial, la mayoría de los casos se seleccionaron en la consulta psiquiatría, revisando las historias clínicas para detectar pacientes con sospecha de TdP, SQTl o SBr inducidos por fármacos (solo dos pacientes fueron detectados en la consulta de cardiología). El tamaño de la cohorte en los estudios publicados varía mucho ya que depende de los criterios de inclusión establecidos.

#### **Factores genéticos en vías farmacodinámicas**

La proarritmia ocurre por la alteración de las principales corrientes que intervienen en la despolarización y repolarización cardíacas. Se conocen fármacos que alteran  $I_{Na}$ ,  $I_{Ca}$  e  $I_{Ks}$ , pero el bloqueo de la corriente  $I_{Kr}$  (canal hERG) es el mecanismo molecular más común en la mayoría de los casos de proarritmia.

Para la búsqueda de potenciales biomarcadores farmacogenéticos en la vía farmacodinámica (ARTÍCULO 4), partimos de la estrategia validada en el ARTÍCULO 1 y, tras continuas revisiones de los genes asociados con cardiopatías familiares (ARTÍCULO 2), diseñamos dos versiones actualizadas del panel de genes que incluían 78 y, posteriormente, 96 genes asociados con canalopatías y miocardiopatías hereditarias con riesgo de muerte súbita

cardíaca. Por la relación entre las proarritmias y los síndromes arritmogénicos hereditarios, esperábamos identificar variantes raras potencialmente causantes de proarritmias en los genes que codifican los canales iónicos (principalmente de potasio) o proteínas adyacentes [371], [380]. Puesto que estos síndromes se caracterizan por penetrancia incompleta, una de las hipótesis que se barajan es que existe una predisposición genética a sufrir arritmias inducidas por fármacos causada por variantes raras, algunas previamente descritas como variantes “débiles” o de penetrancia incompleta, en genes asociados con canalopatías. Esto se ha investigado principalmente en casos de SQT-L-IF y TdP, en los que se han encontrado variantes raras en los genes *KCNQ1*, *KCNH2* y *SCN5A* en un 5% – 40% de los pacientes [372], [384]. Nuestros resultados fueron comparables con resultados de otros estudios previos ya que se detectaron un total de 13 variantes raras en genes que codifican proteínas de canales iónicos en 12 pacientes (37,5%). Pero en cambio, estas variantes no se localizaban en los tres genes principales, sino que estaban distribuidas en genes que codifican distintos canales y unidades adyacentes, implicando canales de  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$  en la arritmogénesis de estos eventos adquiridos. De todas estas variantes, solo el cambio D982V en el gen *KCNH2* se clasificó como variante probablemente patogénica.

La segunda hipótesis expone que variantes comunes en la población son capaces de modular el riesgo de proarritmia. Por tanto, además de variantes raras, exploramos también variantes comunes asociadas previamente a SQT-L-IF o modificadoras de fenotipo en MSC. La variante D982V en el gen *KCNH2* se detectó en un caso de SUD portador del polimorfismo K897T en el mismo gen. La variante K897T, que tiene una frecuencia poblacional del 18,8% en gnomAD (23,8% en población europea), se ha descrito previamente como modificadora de MSC asociada con agravamiento de los síntomas en SQT-L-2; también se ha detectado en casos de SQT-L y TdP adquiridos [386]. Mediante estudios de expresión, esta variante ha demostrado alterar hERG tanto aumentando como disminuyendo la corriente  $I_{Kr}$  [533]–[535]. El individuo de 51 años portador de las variantes incluido en nuestro estudio se desplomó súbitamente y no se halló la causa definitiva de la muerte. El análisis toxicológico detectó niveles terapéuticos de levomepromazina, fármaco con riesgo conocido de TdP, según la clasificación de CredibleMeds. Nuestra hipótesis es que la variante K897T contribuyó al agravamiento de los síntomas de un SQT-L-2 subclínico causado por D982V en el gen *KCNH2* y que se agravó al tomar el antipsicótico proarrítmico. Este caso de SUD es uno de los hallazgos más interesantes del estudio ya que la administración del antipsicótico levomepromazina fue, posiblemente, el desencadenante final de la arritmia letal en presencia de una mutación probablemente patogénica asociada con SQT-L-2 congénito. En este caso, el *screening* familiar no fue posible, sin embargo, sería muy útil para detectar familiares en riesgo de sufrir arritmias inducidas por fármacos. Incluir esta información en la historia clínica evitaría futuros efectos adversos potencialmente letales en la familia.

Tradicionalmente, las cardiopatías familiares se consideraban patologías mendelianas, sin embargo, la utilización de la secuenciación masiva ha supuesto un cambio de paradigma. Cada vez es más evidente que las cardiopatías familiares no son monogénicas en todas sus formas, sino que tienen una base genética compleja en la que múltiples variantes genéticas contribuyen al desarrollo del fenotipo (herencia poligénica u oligogénica). La penetrancia incompleta y la expresividad variable de algunas variantes genéticas hicieron patente que atribuir estas cardiopatías a un único locus era una explicación muy simplista. De hecho, se conocían factores como la edad, el sexo, comorbilidades, factores ambientales o determinadas variantes genéticas que podían modular el efecto de la alteración genética primaria. El concepto de estas variantes modificadoras se propuso para explicar, en parte, dicha penetrancia incompleta y expresividad variable [230]. El papel de estas variantes genéticas modificadoras en la variabilidad



interindividual es un campo que está siendo investigado actualmente y aún hay muchos aspectos que se desconocen, como: el tipo de variante modificadora, las condiciones que se tienen que dar para que se desarrolle el fenotipo o el “tamaño” del efecto que ejercen. Como modificadores genéticos se han descrito: variantes no codificantes, variantes codificantes comunes (“*second hits*”) con  $MAF \geq 1\%$  (frecuencia del alelo menos común o *minor allele frequency*) o múltiples variantes codificantes raras o poco comunes ( $MAF < 1\%$ ) con efecto aditivo en el mismo gen o en genes diferentes [230]. Aunque se conoce poco sobre el efecto que ejercen la mayoría de las variantes, generalmente se asume que variantes comunes (polimorfismos) ejercen un efecto pequeño, mientras que variantes menos comunes o raras tienen un efecto intermedio o “grande” [536].

Uno de los fenotipos en los que más se ha estudiado el efecto de variantes modificadoras es el SQTl, sobre todo el efecto modulador de las variantes comunes sobre el intervalo QT. Hoy en día se considera que las variantes modificadoras de fenotipo tienen un papel causal importante en el fenotipo final cuando se asocian con otras variantes genéticas raras o bajo determinadas condiciones, por ejemplo, en presencia de fármacos. Mediante estudios de GWAS y genes candidatos, se han detectado variantes genéticas comunes que se asocian con incrementos modestos en la duración del intervalo QT (~1-4ms), confirmando el papel relevante de estas variantes en la susceptibilidad del SQTl [537]–[539]. Se ha demostrado, además, que estas variantes comunes pueden tener un efecto acumulativo, considerando el intervalo QT como el resultado de la suma de efectos asignados a distintos alelos asociados con el fenotipo, estableciendo una puntuación de riesgo poligénico (PRS, por sus siglas en inglés: *polygenic risk score*) [229], [375]. El mayor estudio de la variabilidad del intervalo QT en individuos europeos identificó 68 SNPs en 35 *loci* que, en conjunto, explicarían entre un 8-10% de la variación del intervalo QT [540]. Muy recientemente, también los resultados de Lahrouchi *et al.* mostraban que en torno a un 15% de la variabilidad podía deberse a variantes comunes, por lo menos en pacientes con genotipo negativo para los tres genes mayoritarios: *KCNQ1*, *KCNH2* y *SCN5A*, sugiriendo una forma poligénica predominante de SQTl en estos pacientes [229]. Los SNPs que influyen en la variación del intervalo QT pueden ser utilizados como marcadores de riesgo con efecto predictivo, por ejemplo, en la prolongación de QT inducido por fármacos. Abbott *et al.* fueron los primeros en demostrarlo asociando un polimorfismo (T8A) en *KCNE2* con mayor predisposición a sufrir TdP [541]. Otro ejemplo es el análisis de Strauss *et al.* en el que demostraron mediante PRS que 61 SNPs (de los 68 SNPs mencionados antes) explicarían en torno a un 27-30% la variabilidad del intervalo QT en respuesta a tres fármacos prolongadores de QT en individuos sanos (a falta de replicar estos resultados en cohortes más grandes) [375]. Por tanto, las variantes comunes pueden modular el riesgo de prolongación del QT tanto congénito como adquirido. Una de las variantes más estudiadas y replicadas por distintos estudios es la variante D85N en el gen *KCNE1*. Se considera una variante “poco frecuente”, sin llegar a ser considerada rara o común ya que está presente en aproximadamente un 1% de la población (0,93% en población general en gnomAD; 1,22% en población europea). Esta variante se identificó en nuestra cohorte en una mujer (APs\_20) de 42 años con sospecha de SQTl inducido por ATC; esta paciente era portadora también de una VUS previamente no descrita en el gen *PKP2* que codifica una proteína desmosomal implicada en el desarrollo de MAVD y SBr. El gen *KCNE1* codifica la subunidad  $\beta$  MinK del canal de potasio, jugando un papel importante en la regulación de las corrientes  $I_{Kr}$  e  $I_{Ks}$  y en la repolarización cardíaca. La variante D85N está clasificada en ClinVar por distintos autores como factor de riesgo/incierta/probablemente benigna/benigna, sin embargo, en la literatura se ha descrito que: aumenta el intervalo QT en la población general, aumenta el riesgo de TdP-IF, modula la gravedad de SQTl1 y 2 (*KCNQ1* y *KCNH2*) y causa SQTl congénito en

población japonesa, pero se considera una variante de baja penetrancia [382], [384], [542], [543]. Incluso varios trabajos demuestran, mediante estudios funcionales, que esta variante disminuye las corrientes de potasio  $I_{Kr}$  e  $I_{Ks}$  [249], [382], [542]. La disminución de estas corrientes podría crear un sustrato susceptible de proarritmia en presencia de un desencadenante o “*second hit*” como: un conjunto de SNPs implicados en la prolongación de QT, determinadas condiciones fisiológicas o clínicas, una variante genética asociada a SQTl que disminuye la reserva de repolarización o fármacos que bloquean la corriente  $I_{Kr}$  (muchos ATC), como podría ser el caso de esta paciente [544]. Incorporar este resultado en su historia clínica podría evitar a esta paciente futuros efectos cardiotóxicos.

Identificar y reportar las variantes comunes potencialmente proarritmicas es importante a la hora de establecer el riesgo proarritmico de un paciente. Sin embargo, la mayoría de los laboratorios no las incluyen en los informes de estudio genético cuando estos estudios se llevan a cabo en el ámbito asistencial. Una de las razones es que la mayoría de los laboratorios de diagnóstico genético las clasifica como VUS o probablemente benignas según las guías de la ACMG/AMP, sin reflejar el riesgo proarritmico real que comportan. Autores como Giudicessi *et al.* analizan este problema y sugieren un esquema de clasificación que incluya dos nuevas categorías, “alelo de riesgo” y “alelo funcional de riesgo”, según la evidencia que apoye el papel causal de estas variantes (estudios funcionales, epidemiológicos, etc.) [520]. De esta forma quedaría reflejado el riesgo proarritmico que suponen y esta información estaría disponible en la historia clínica electrónica del paciente.

Algo que nos llamó la atención de los resultados obtenidos fue la gran cantidad de variantes detectadas en los genes de miocardiopatías. Hasta el momento, los estudios de genes candidatos se habían basado principalmente en genes que codifican proteínas de canales iónicos cardíacos por su papel en la arritmogénesis (sobre todo los asociados SQTl), genes de proteínas transportadoras y algunos otros genes previamente descritos en estudios de GWAS, como por ejemplo *NOS1AP*. Para este estudio decidimos ir más allá e incluir el análisis de los genes que codifican proteínas estructurales asociadas a miocardiopatías. Esta decisión fue motivada por los resultados de varios estudios de nuestro grupo en los que se encontraban un gran número de variantes en genes de miocardiopatías estructurales en casos de SADS, SIDS y SUD [483], [529], [545]. Cómo las variantes genéticas en los genes sarcoméricos podrían provocar arritmogénesis sin un fenotipo visible que no pueda distinguirse durante la autopsia o la valoración clínica aún está por resolver. Algunos autores sugieren que puede deberse a cambios subclínicos localizados que no son visibles en una autopsia [458]. Otros autores han observado disminución de  $I_{Na}$  en ausencia de cambios estructurales visibles en modelos de ratón de MCA desmosomal, por lo que podría ser que estas variantes tuvieran un efecto sobre la función eléctrica cardíaca antes de que se manifieste el fenotipo estructural [485], [486]. Las alteraciones en la homeostasis del calcio juegan un papel importante en la contracción cardíaca y en la patogénesis de las arritmias cardíacas. Estudios genéticos en pacientes con síndromes arritmogénicos familiares han detectado mutaciones en varios canales y transportadores de calcio, implicando directamente la disfunción de estas proteínas en los mecanismos de la enfermedad [546], [547]. Conforme avanza el conocimiento molecular de las cardiopatías familiares, cada vez hay más genes comunes entre síndromes arritmogénicos y miocardiopatías estructurales evidenciando el solapamiento genético. Por ejemplo, aunque el gen *SCN5A* es el gen más mutado en pacientes con SBr, se han identificado mutaciones en pacientes con SBr en el gen *PKP2*, que codifica una proteína desmosomal, o en genes sarcoméricos, como *MYBPC3*, *TTN*, *TPM1* o *MYH7*, incluso mutaciones dando lugar a fenotipos tan variables como MCH y SBr en distintos miembros de una misma familia con la misma mutación [290], [487]. Mango *et al.* estudiaron el efecto funcional de la mutación E192K en el gen *TPM1* demostrando que

alteraba la regulación y señalización del calcio. Estos resultados sugieren que el SBr no siempre se origina como una disfunción de un canal iónico, sino que puede originarse también como una patología del miofilamento que altera la señalización del calcio intracelular. Por tanto, estas alteraciones en genes sarcoméricos o desmosomales podrían alterar la homeostasis del  $\text{Ca}^{+2}$  incluso sin alteraciones estructurales evidentes, dando lugar a una especie de canalopatía adquirida y facilitando un sustrato arritmogénico que dé lugar a arritmias y MSC [488].

Ante estos hallazgos, no parecía descabellado que variantes en genes de miocardiopatías pudieran aportar mayor riesgo a sufrir eventos arritmogénicos adquiridos sin patología estructural. Se detectaron un total de 35 variantes en genes de miocardiopatías en 24 pacientes (75%), dos ellas clasificadas como probablemente patogénicas en pacientes con SQTL-IF: p.Asn4539\* en el gen *TTN* y p.V1125M en el gen *MYBPC3*. La variante p.Asn4539\* en el gen *TTN* se encontró en un paciente con SQTL-IF sin diagnóstico de miocardiopatía, pero con antecedentes familiares de MCD; esta variante aparecía en la literatura asociada con MCD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/8604/>). V1125M en el gen *MYBPC3* se detectó en un paciente con una VUS en el gen *ANK2*, asociado con SQTL. V1125M aparece reportada en la literatura en individuos con MCH con expresividad variable y, en un caso, en heterocigosis compuesta con otra mutación patogénica en el mismo gen; también se ha identificado en individuos con MCD y en un caso de SUD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/8604/>). Nos sorprendió identificar, además, otras cuatro variantes previamente asociadas con penetrancia incompleta, fenotipos menos graves, atípicos o de aparición tardía, en genes de miocardiopatías (Tabla 3, ARTÍCULO 4). Serían necesario estudios funcionales y análisis de los genes de miocardiopatías en cohortes más grandes para saber qué genes, qué tipo de variantes y en qué medida contribuyen o no al riesgo proarrítmico. El gen con más variantes fue *MYBPC3*, pero se encontraron un total de 12 variantes en genes sarcoméricos, cinco en genes desmosomales y 12 en genes que codifican otras proteínas estructurales. Estas variantes genéticas podrían crear un sustrato arritmogénico haciendo al corazón más vulnerable ante fármacos proarrítmicos. Sin embargo, no podemos descartar que la presencia de estas variantes haya sido por azar y no tengan ninguna significancia en el fenotipo del paciente.

### Factores genéticos en vías farmacocinéticas

En la vía farmacocinética, gran parte de la variabilidad de la respuesta a fármacos depende de las enzimas que componen el citocromo P450, cuya función depende, a su vez, de la combinación de alelos en los genes que codifican cada enzima. Esta combinación alélica da lugar a que haya individuos con fenotipos metabolizadores lentos, normales, rápidos o ultrarrápidos, que influirán en la Cp del fármaco. El hecho de que el riesgo de proarritmia y MSC pueda ser depender de la Cp del fármaco nos motivó a estudiar las variantes alélicas en los CYP en estos pacientes.

A diferencia de las variantes genéticas en la vía farmacodinámica, el estudio de la vía farmacocinética se realizó mediante genotipado de medio rendimiento en la plataforma *MassARRAY System* (Agena Bioscience) con análisis de espectrometría de masas MALDI-TOF, disponible en el nodo de Santiago de Compostela del Centro Nacional de Genotipado (CEGEN-PRB3). En esta ocasión, el trabajo no se llevó a cabo mediante secuenciación masiva por varias razones: 1) el genotipado es una de las técnicas de elección para estudiar cambios puntuales en el genoma ya que es fiable y eficiente, ahorra tiempo y abarata costes frente a la secuenciación masiva; 2) esta técnica es adecuada para ensayos con muestras forenses muy degradadas, puesto que analiza fragmentos cortos específicos conocidos; 3) el estudio mediante



secuenciación masiva implicaba poner a punto una nueva estrategia para estudiar los genes que codifican las enzimas CYP; estos genes se caracterizan por ser muy polimórficos, tener mucha homología entre ellos, pseudogenes y regiones repetitivas, características que dificultan la secuenciación [548]; 4) alrededor del ~47% de las muestras eran casos de SUD, con cantidad limitada de ADN, en muchos casos parcialmente degradado, lo cual dificultaba el análisis de dichos genes mediante secuenciación masiva. Actualmente, se están realizando investigaciones de la variabilidad genética en CYP mediante secuenciación masiva con la finalidad de encontrar variantes raras que puedan explicar parte de la variabilidad que no se explica con los SNPs conocidos hasta ahora [549], [550]. Se genotiparon aproximadamente 191 SNPs, inserciones-deleciones y CNV presentes en 36 farmacogenes clínicamente relevantes, de los cuales se analizaron los localizados en los cinco CYP metabolizadores de los antipsicóticos y antidepresivos que estaban tomando los pacientes en el momento de la arritmia o, en el caso de SUD, que se detectaron en los estudios toxicológicos como parte de la investigación medicolegal de la muerte.

Los resultados arrojaron varios hallazgos relevantes. Por un lado, sugieren que los polimorfismos presentes en *CYP2C19* pudieron contribuir en el evento arritmogénico en dos pacientes con SQT-IF, y los polimorfismos en *CYP2D6* en un caso de SUD. En los tres pacientes, la interacción fármaco-gen detectada podría implicar un cambio en la prescripción del fármaco según las agencias reguladoras o alguna de las guías clínicas publicadas por CPIC o DPWG. Sin embargo, recomendaciones entre los distintos organismos no coinciden (Tabla 20). Por ejemplo, uno de los pacientes desarrolló el fenotipo arritmogénico al comienzo del tratamiento con escitalopram, clasificado por CredibleMeds como fármaco con riesgo conocido de *Torsades de Pointes* (siendo este riesgo dependiente de dosis). Este fármaco es metabolizado mayoritariamente por CYP2C19, para el cual el paciente era IM. Con respecto a la información farmacogenética incluida en la ficha del fármaco, si acudimos a las recomendaciones de la FDA, CPIC y DPWG, la información es confusa. La FDA reconoce la interacción escitalopram-PM CYP2C19 (no IM) como una asociación fármaco-gen que puede aumentar la concentración sistémica del fármaco e incluye esta información en la ficha del fármaco, pero no establece una recomendación específica de cambio de dosis o manejo del paciente. El CPIC, en cambio, reconoce que el metabolismo está reducido en IM, pero solo establece recomendación de reducir la dosis máxima al 50% en individuos PM CYP2C19 y no en IM. Por último, la DPWG, sí recomienda pautas de prescripción para ambos fenotipos por el riesgo de prolongación de QT y TdP que comportan. La recomendación para CYP2C19 PM en este caso sería la misma que CPIC, mientras que para IM recomienda una dosis máxima del 75% de la dosis estándar.

Como ya se ha descrito anteriormente, la variabilidad de la respuesta al fármaco es la suma de un conjunto de factores que contribuyen al fenotipo final. En psiquiatría es habitual que los pacientes estén tomando tratamientos complejos con dos o más fármacos proarrítmicos cuyo efecto puede ser aditivo. Por ejemplo, el efecto aditivo de dos fármacos que prolongan el QT o la interacción de dos fármacos que afecta a las enzimas metabolizadoras puede aumentar la probabilidad de sufrir arritmias ventriculares y TdP. En nuestro estudio, el 62,5% de los pacientes estaban polimedicados y tomaban dos o más fármacos previamente relacionados con prolongación del QT o proarritmia. La polimedicación dificulta el estudio de la contribución de las variantes genéticas en el fenotipo final, pero representa la situación actual de los pacientes psiquiátricos en la práctica clínica.

Tabla 20. Recomendaciones clínicas de FDA, CPIC, DPWG y AEMPS sobre las interacciones fármaco-gen encontradas en nuestra cohorte.

Paciente	Fármaco	Gen	Fenotipo paciente	Organismo	Recomendación
APs_13	Escitalopram	CYP2C19	IM/PM	FDA	PM: accionable, sin recomendación específica
				CPIC	PM: reducir D estándar al 50% y ajustar según respuesta o cambiar a fármaco no metabolizado por CYP2C19
				DPWG	IM: no exceder 75% de D <sub>máx</sub> estándar PM: no exceder 50% de D <sub>máx</sub> estándar
				AEMPS	PM: D inicial de 5mg/día durante 2 semanas y aumentar hasta 10mg/día según la respuesta
APs_25	Clomipramina	CYP2D6	PM*	FDA	Accionable, monitorizar Cp
				CPIC	Opcional: evitar el uso de clomipramina o reducir D estándar al 50% y monitorizar Cp
				DPWG	Reducir D estándar al 50% y monitorizar Cp de clomipramina y desmetilclomipramina
		CYP2C19	PM	CPIC	Opcional: evitar el uso de clomipramina o reducir D estándar al 50% y monitorizar Cp
		CYP2D6	PM*	CPIC	Opcional: evitar el uso de clomipramina y monitorizar si no es posible
		CYP2C19	PM		
APs_23	Venlafaxina	CYP2D6	IM	DPWG	Cambiar medicamento o reducir D y monitorizar Cp de venlafaxina y O-desmetilvenlafaxina. Los efectos adversos no parecen dependientes de D.

D: dosis; D<sub>máx</sub>: Dosis máxima; AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. \*fenotipo inferido por fenoconversión de NM a PM; Cp: concentración plasmática.

En dos pacientes (APs\_13 y APS\_25) con variantes genéticas potencialmente relacionadas con la arritmogénesis en los CYP, se evidenció que el genotipo era solo uno de varios factores de riesgo que fueron claves para el desarrollo de la arritmia/prolongación del QT. El paciente APs\_13, en tratamiento con salbutamol y olanzapina, desarrolló SQTIL-IF grave (QTc=500ms, 516ms y 486ms), TdP-IF y parada cardiorrespiratoria cuando comenzó a tomar escitalopram [551]. Este fármaco se asocia a un mayor riesgo de prolongación de QT y TdP dependiente de dosis por su capacidad de unirse tanto a los canales hERG abiertos como a los inactivos inhibiendo el tráfico de iones de K<sup>+</sup> al interior celular. Estos eventos se dieron en condiciones de hipopotasemia (hipocalemia) e hipomagnesemia, reconocidos como factores de riesgo en *Torsades de Pointes*. La hipopotasemia pudo ser provocada por salbutamol ya que es uno de sus efectos adversos conocidos. El salbutamol, además, puede ejercer un efecto sobre-regular en los canales de calcio L-type, produciendo sobrecarga intracelular de calcio. Esta acumulación de calcio intracelular puede dar lugar a PPP y TdP, sobre todo en pacientes con prolongación de QT o en presencia de otros fármacos [552]. La olanzapina, aunque se asocia con poca afinidad por los canales hERG, está clasificada por CredibleMeds como fármaco con riesgo torsadogénico en determinadas condiciones, como niveles bajos de K<sup>+</sup> y Mg<sup>+</sup> o uso

concomitante con otros fármacos con riesgo de TdP o SQTIL-IF [553]. Nuestra hipótesis es que, en este paciente, la función metabolizadora de CYP2C19 estaba reducida y aumentó la Cp de escitalopram. Este aumento provocó prolongación de la repolarización cardíaca dependiente de dosis que, junto al efecto potenciador de la olanzapina en la prolongación de QT y la acumulación de calcio intracelular por salbutamol, facilitó el desarrollo de PPP y TdP en presencia de hipopotasemia e hipomagnesemia. La combinación de estos factores de riesgo simultáneamente pudo ser letal para esta paciente.

El paciente APs\_25 desarrolló la prolongación del QT con el cambio de dosis de clomipramina. El paciente estaba en tratamiento, además, con clomipramina, olanzapina, clonazepam y fluoxetina. Años antes, había presentado también QT prolongado en presencia de clomipramina, litio, clonazepam y fluoxetina. La clomipramina bloquea los canales hERG con efecto dependiente de concentración y está clasificada como fármaco con riesgo de TdP en condiciones de hipopotasemia, hipomagnesemia, dosis excesiva y uso concomitante con otros medicamentos proarrítmicos [554]. La ruta primaria de metabolismo de la clomipramina es la desmetilación a su metabolito activo N-desmetilclomipramina (DC) llevada a cabo principalmente por CYP2C19 y en menor medida por CYP3A4 y CYP1A2, seguida de la eliminación de ambas a través de hidroxilación mediante CYP2D6. Pacientes PM CYP2D6 pueden tener concentraciones plasmáticas más altas de clomipramina y DC que los metabolizadores normales ante la misma dosis (Tabla 20). En este paciente, aunque el genotipo de CYP2D6 indicara una función normal, su actividad posiblemente era comparable a la de los metabolizadores pobres por la inhibición potente de la actividad de CYP2D6 por parte de la fluoxetina y, en menor medida, por parte de la misma clomipramina. Esta inhibición posiblemente aumentó las concentraciones plasmáticas de la clomipramina y su metabolito activo. Un estudio en población japonesa asoció el genotipo 2\*/2\* de CYP2C19 (fenotipo PM CYP2C19) a un aumento de la Cp de clomipramina y aumento de la ratio de clomipramina/DC, sin embargo, este estudio se realizó en una cohorte pequeña, por lo que son necesarios más estudios para confirmar esta interacción y saber si este genotipo pudo influir en el riesgo de prolongación de QT [555]. Por otro lado, se considera que olanzapina y fluoxetina aumentan el riesgo de prolongación de QT y TdP en determinadas condiciones. El paciente era portador de una variante incierta en el gen *CACNA1C*, sin embargo, en este contexto arritmogénico debido a la interacción entre fármacos, es muy complejo valorar el papel de esta variante genética en la prolongación del QT. En este paciente, aunque las variantes genéticas pudieron influir en el fenotipo arritmogénico, la fenoconversión de CYP2D6 de NM a PM por la inhibición de fluoxetina (mayoritariamente) y clomipramina parece que fue clave en la prolongación del QT. Los factores de riesgo que podrían haber contribuido al SQTIL-IF fueron: *prolongación de QT dependiente de dosis por clomipramina + posible aumento de clomipramina por fenotipo PM CYP2C19 + inhibición potente de CYP2D6 por fluoxetina + inhibición de CYP2D6 por clomipramina + efecto potenciador de olanzapina y fluoxetina.*

El paciente APs\_23 es un caso de SUD cuyo análisis toxicológico detectó concentración terapéutica de venlafaxina en sangre. En este paciente se detectaron también concentraciones terapéuticas de benzodiacepinas en sangre que no tendrían, *a priori*, un papel relevante en la arritmogénesis. La venlafaxina está clasificada por CredibleMeds como fármaco con posible riesgo de TdP. Las variantes que se detectaron indicaban que el individuo era IM para CYP2D6 y NM o IM para CYP2C19. Mediante CYP2D6, la venlafaxina se transforma en su principal metabolito activo, O-desmetilvenlafaxina (ODV) y, de forma minoritaria, a un metabolito secundario menos activo, N-desmetilvenlafaxina, mediante CYP3A4 y CYP2C19. Ambos metabolitos se metabolizan a un tercer metabolito sin efecto farmacológico a través de CYP3A4, CYP2C19 y CYP2D6. Un fenotipo PM puede alterar las concentraciones de venlafaxina y sus

metabolitos, aumentando el riesgo de reacciones adversas. A pesar del papel mayoritario del CYP2D6 en la formación de ODV, se piensa que CYP2C19 podría tener también un papel relevante ya que se han detectado concentraciones plasmáticas de ODV en individuos sin función metabolizadora en CYP2D6 [556], [557]. Se piensa, además, que CYP2C19 podría influir en el metabolismo de venlafaxina en individuos PM e IM CYP2D6, sin embargo, los estudios aún son limitados. Si consideramos la hipótesis de que la venlafaxina pudo influir en el evento arritmogénico fatal y, además, asumimos que el individuo es IM CYP2C19, tendría sentido que el CYP2C19 estuviera implicado en la formación de ODV y explicaría por qué se detecta concentración terapéutica de venlafaxina en la sangre del fallecido. Con la evidencia actual, no podemos saber si la variante incierta p.D359N en el gen *LDB3*, detectada en la vía farmacodinámica, influyó en la MSC.

En los tres casos, los fármacos cuyo metabolismo se veía afectado eran antidepresivos: escitalopram (inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, ISRS), venlafaxina (inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina, IRSN) y clomipramina (ATC). Los pacientes psiquiátricos, normalmente prueban varios tratamientos mediante ensayo-error hasta dar con el más adecuado que mejora sus síntomas con los mínimos efectos adversos. Para optimizar el tratamiento se tardan varias semanas, esto supone un desgaste para el paciente y también un coste para los servicios sanitarios. Por ejemplo, probar si un tratamiento funciona o no con antidepresivos normalmente tarda una media de 6 a 8 semanas, tiempo en el que el paciente puede estar tomando un medicamento que no le funciona o sufrir reacciones adversas que pueden resultar peligrosas para la salud. En la medicina personalizada se espera que el análisis farmacogenético ayude a optimizar la respuesta al tratamiento, disminuya las reacciones adversas, aumente la seguridad en la elección del fármaco, mejore la adherencia al tratamiento, aumente la probabilidad de éxito terapéutico y disminuya el coste para los sistemas de salud.

En nuestra cohorte el estudio farmacogenético ha permitido identificar en total siete pacientes (21,8%) con variantes genéticas que pudieron influir en el fenotipo arritmogénico, cuatro en la vía farmacodinámica y tres en la vía farmacocinética. El estudio simultáneo de los factores genéticos en la vía farmacocinética y la vía farmacodinámica nos permitía estudiar un posible riesgo acumulado por defectos genéticos en ambas vías, sin embargo, ante la gran cantidad de variantes de significado incierto en la vía farmacodinámica, no ha sido posible valorar dicho alcance. A pesar de ello, cabe destacar que los pacientes con las variantes probablemente patogénicas en la vía farmacodinámica no eran portadores de variantes genéticas en las enzimas metabolizadoras de fármacos.

Mediante el estudio de los genes asociados con trastornos arritmogénicos familiares pudimos identificar dos individuos (6,25%) con variantes potencialmente proarrítmicas, uno de ellos con posible SQTl subclínico. Los resultados confirman la importancia de reportar las variantes proarrítmicas comunes y de baja frecuencia que habitualmente son clasificadas como benignas y descartadas del informe genético. Incorporar estas variantes al historial médico del paciente podría ayudar al clínico a identificar pacientes con riesgo proarrítmico antes de un nuevo tratamiento y así evitar nuevas arritmias inducidas por fármacos. En el ámbito forense, estas variantes pueden ayudar a establecer una posible causa de muerte, con estudios de cosegregación de las variantes en la familia en el contexto de la investigación medicolegal de casos de SUD y SADS. Las mutaciones probablemente patogénicas y las variantes “débiles” o con efecto moderado en genes que codifican proteínas estructurales podrían haber influido en el desarrollo de la proarritmia en hasta cinco pacientes. Sin embargo, la implicación de estos genes en el desarrollo de arritmias inducidas por fármacos aún tiene que confirmarse.

Gracias al estudio de la variabilidad genética de las enzimas metabolizadoras de fármacos detectamos tres individuos (9,4%) cuyo metabolismo estaba posiblemente alterado e influyó en el desarrollo de la proarritmia. No podemos saber en qué medida dicha variabilidad contribuyó a la proarritmia, dado el papel relevante de otros factores de riesgo, sobre todo de las interacciones farmacológicas. A pesar de ello, las variantes genéticas encontradas en estos pacientes podrían tener consecuencias directas en su tratamiento ya que las asociaciones farmacogenéticas detectadas en los tres pacientes son accionables o tienen recomendaciones de prescripción en alguna de las guías clínicas publicadas. Sin embargo, la discordancia de las recomendaciones debida a la falta de evidencia que confirme las interacciones fármaco-gen en antidepresivos podría ser una de las razones por las que su uso es limitado en clínica.

Para avanzar en la implantación de la farmacogenética, actualmente se están llevando a cabo grandes estudios en los que se pretende evaluar su impacto en el paciente y su rentabilidad para los sistemas de salud [558]. Sus objetivos son: integrar los resultados de las pruebas farmacogenómicas en la historia electrónica del paciente, implementar las guías ya existentes de CPIC, implementar nuevas asociaciones fármaco-gen y evaluar su utilidad clínica, profundizar en las asociaciones fenotipo-genotipo, formar a los sanitarios en farmacogenómica o utilizar las técnicas de secuenciación masiva para estudios de farmacogenómica, entre otras.

El diagnóstico molecular y la farmacogenética son piezas clave en la medicina de precisión. Con el objetivo de optimizar diagnóstico y tratamiento y de predecir el desarrollo de enfermedades, actualmente se están invirtiendo grandes esfuerzos en integrar la información genómica y molecular junto a la información clínica, social y ambiental en el historial médico del paciente [559]. En un futuro, la integración de los datos de las distintas ómicas (genómica, epigenómica, metabolómica, proteómica, etc.) junto a los datos clínicos permitirán profundizar en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades, avanzar en su diagnóstico molecular y desarrollar nuevos fármacos más específicos con el objetivo de conseguir una medicina individualizada, más segura, eficiente, preventiva y predictiva.





## **CONCLUSIONES**



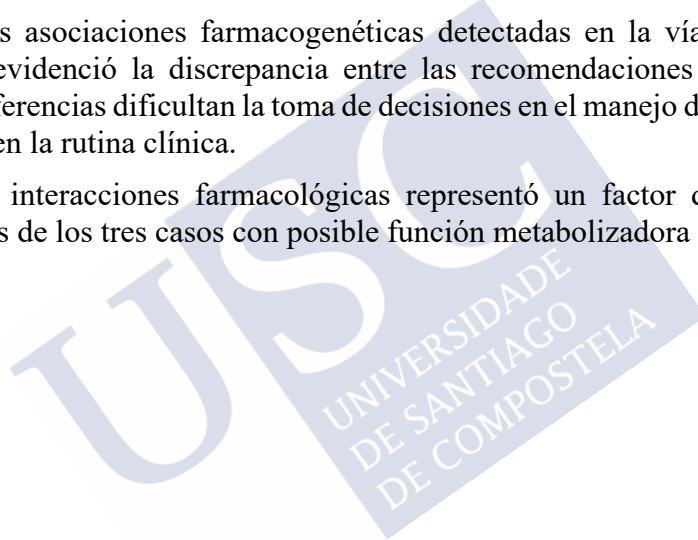


## CONCLUSIONES

1. La secuenciación masiva resultó una técnica sensible, con baja tasa de error y eficiente en el diagnóstico molecular de las cardiopatías familiares, así como una herramienta potencial de autopsia molecular en muestras *post mortem*.
2. La estrategia diseñada para el diagnóstico genético de las cardiopatías familiares ha demostrado ser válida para muestras clínicas y *post mortem* (parcialmente degradadas). A excepción de una muestra con un elevado nivel de degradación, todas las muestras secuenciadas mostraron cobertura homogénea y suficiente profundidad de lectura.
3. A pesar de trabajar con paneles de genes candidatos (y no con exoma completo), se obtuvo un alto porcentaje de variantes inciertas a las que no se pudo asignar un papel patogénico o modificador de fenotipo: un 39,2% en la cohorte de síndromes arritmogénicos, un 52,6% en la cohorte de cardiopatías familiares, y hasta un 90% en los casos de arritmias inducidas por fármacos. Este resultado refleja el gran reto al que actualmente se enfrenta la comunidad científica en el diagnóstico de las cardiopatías familiares mediante secuenciación masiva.
4. El rendimiento diagnóstico (pacientes con variantes patogénicas o probablemente patogénicas) resultó mayor en la cohorte de pacientes con diagnóstico clínico de cardiopatía familiar frente a la cohorte de casos de SUD y SIDS.
5. La secuenciación masiva es una herramienta útil para desentrañar genotipos complejos con dos o más variantes en los genes candidatos. Estos genotipos se detectaron en un 13% de pacientes con cardiopatías familiares y en un 28% de pacientes de la cohorte de arritmias inducidas por fármacos.
6. La ausencia de estudios de cosegregación familiar ha condicionado en gran medida el rendimiento diagnóstico de los estudios de secuenciación masiva presentados en esta tesis. Estos estudios son esenciales para determinar la posible patogenicidad de las variantes genéticas, principalmente en los casos de muerte súbita sin causa identificada.
7. Ante el rápido avance de las técnicas de secuenciación masiva y del conocimiento de las bases moleculares de las cardiopatías familiares, es esencial reciclar continuamente el conocimiento científico, validar y optimizar nuevas estrategias para su diagnóstico molecular, así como reclasificar periódicamente las variantes en casos con estudio genético negativo.
8. Ante la sospecha de arritmia o MSC inducida por fármacos, el estudio de genes asociados con síndromes arritmogénicos hereditarios es de utilidad para detectar posibles fenotipos subclínicos. Nuestro estudio identificó dos alteraciones de los canales de  $K^+$  como mecanismo subyacente a las proarritmias, una de ellas potencialmente letal.
9. En pacientes con arritmias inducidas por fármacos, los modificadores genéticos pueden jugar un papel fundamental como biomarcadores proaritmicos. En nuestra cohorte, dos variantes se consideraron buenos marcadores del riesgo proaritmico en sendos pacientes: una variante proaritmica poco frecuente (D85N en el gen *KCNE1*) y una variante común implicada en el agravamiento de síntomas de SQT2, en presencia de otra variante rara en el mismo gen (K897T y D982V en el gen *KCNH2*, respectivamente).
10. Los resultados confirman la importancia de estudiar y reportar las variantes potencialmente proaritmicas e incorporarlas en el informe de diagnóstico genético. Saber si un paciente es

portador de estas variantes proarrítmicas, advirtiéndolo del posible riesgo de arritmia del paciente, podría ser útil a la hora de optimizar un tratamiento y valorar la necesidad de monitorizar marcadores de riesgo de arritmia en presencia de otros agentes arritmogénicos.

11. En el ámbito forense, estas variantes podrían ayudar a explicar una posible causa de muerte, siempre acorde a los resultados de la autopsia, junto a la valoración clínica de los familiares y con estudios de cosegregación.
12. La gran cantidad de variantes detectadas en genes que codifican proteínas estructurales sugiere que estas variantes podrían influir en la arritmogénesis inducida por fármacos, incluso sin alteración estructural evidente. Sin embargo, no podemos descartar que la presencia de estas variantes haya sido por azar.
13. Los resultados obtenidos en el estudio de la vía farmacocinética señalan la actividad metabolizadora alterada de CYP2C19 y/o CYP2D6 como factor de riesgo en proarritmias y SQTl inducido por antidepresivos. Los resultados confirman que el bloqueo de IKr es un importante mecanismo subyacente a estos fenotipos proarrítmicos.
14. Aunque todas las asociaciones farmacogenéticas detectadas en la vía farmacocinética eran accionables, se evidenció la discrepancia entre las recomendaciones de las distintas guías clínicas. Estas diferencias dificultan la toma de decisiones en el manejo del paciente y, por ende, su implantación en la rutina clínica.
15. La presencia de interacciones farmacológicas representó un factor de riesgo proarrítmico importante en dos de los tres casos con posible función metabolizadora alterada.



## CONCLUSIONS

1. Massive parallel sequencing proved to be a sensitive, low-error rate and efficient technique for the molecular diagnosis of inherited cardiomyopathies and cardiac channelopathies, as well as a potential tool for molecular autopsy in *post-mortem* samples.
2. The strategy designed for the genetic diagnosis of inherited arrhythmogenic disorders has proved to be valid for both clinical and *post-mortem* (partially degraded) samples. Except for one sample which presented a high degree of DNA degradation, all sequenced samples showed homogeneous coverage and sufficient depth of coverage.
3. Even working with candidate gene panels (not with the whole exome), we obtained a high percentage of variants of uncertain significance to which a pathogenic or phenotype modifier role could not be assigned: 39.2% in the inherited arrhythmogenic syndromes cohort, 52.6% in the cohort with inherited cardiac diseases, and up to 90% in the cases of drug-induced arrhythmias. This result reflects the great challenge currently faced by the scientific community in the diagnosis of inherited cardiomyopathies and cardiac channelopathies through massive parallel sequencing.
4. The diagnostic yield (patients with pathogenic or probably pathogenic variants) was higher in the cohort of patients with clinical diagnosis of inherited cardiac diseases compared with the cohort of cases of SUD and SIDS.
5. Massive parallel sequencing is a useful tool to unravel complex genotypes with two or more variants in the candidate genes. These genotypes were detected in 13% of patients with inherited cardiac diseases and 28% in those with drug-induced arrhythmias.
6. The absence of family cosegregation studies has largely conditioned the diagnostic yield of the massive parallel sequencing studies presented in this thesis. These studies are essential to determine the pathogenicity of the genetic variants, mainly in cases of sudden death without an identified cause of death.
7. Considering the rapid advance of either massive parallel sequencing technologies and the knowledge of the molecular bases underlying inherited cardiac diseases, it is essential to continuously recycle scientific knowledge, to validate and optimize new strategies for their molecular diagnosis, as well as to regularly assess the variants in cases with negative genetic study.
8. In patients with suspected drug-induced arrhythmia or SCD, the study of the genes associated with congenital LQTS is useful to detect possible subclinical phenotypes. Our study identified two alterations of K<sup>+</sup> channels as an underlying mechanism of proarrhythmias, one of them potentially lethal.
9. In patients with drug-induced arrhythmias, genetic modifiers may play a key role as proarrhythmic biomarkers. In our cohort, a low frequency proarrhythmic variant (D85N in the *KCNE1* gene) and a polymorphism involved in the aggravation of LQTS2 symptoms, in the presence of another rare variant in the same gene (K897T and D982V in the *KCNH2* gene, respectively), were good markers of proarrhythmic risk in two patients.
10. The results confirm the importance of studying and reporting potentially proarrhythmic variants and incorporating them into diagnostic reports. Knowing whether a patient is a carrier of these

proarrhythmic variants, warns about the patient's possible proarrhythmic risk, and could be useful in optimizing a treatment and assessing the need to monitor arrhythmia risk markers in the presence of other arrhythmogenic agents.

11. In the forensic field, these variants could help explain a possible cause of death, always in accordance with the results of the autopsy, together with the clinical assessment of the relatives and with cosegregation studies.
12. The large number of variants detected in genes encoding structural proteins suggests that these variants could influence drug-induced arrhythmogenesis, even without overt structural alteration. However, we cannot exclude that the presence of these variants has been by chance.
13. The results obtained in the study of the pharmacokinetic pathway point out the altered metabolizing activity of CYP2C19 and/or CYP2D6 as a risk factor in proarrhythmias and LQTS induced by antidepressants. The results confirm that  $I_{Kr}$  blockade is an important mechanism underlying these proarrhythmic phenotypes.
14. Although all the detected pharmacogenetic associations in the pharmacokinetic pathway had actionable consequences, the discrepancy between the recommendations of the different clinical guidelines was evident. These differences make it difficult to take decisions in the management of the patient and, therefore, to implement them in the clinical routine.
15. The presence of pharmacological interactions represented an important pro-arrhythmic risk factor in two of the three cases with possible altered metabolic function.





## **BIBLIOGRAFÍA**





## BIBLIOGRAFÍA

- [1] C. Basso *et al.*, “Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death: 2017 update from the Association for European Cardiovascular Pathology on behalf of the Association for European Cardiovascular Pathology,” *Virchows Arch*, vol. 471, pp. 691–705, 2017, doi: 10.1007/s00428-017-2221-0.
- [2] S. G. Priori *et al.*, “2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death,” *Eur. Heart J.*, vol. 36, no. 41, pp. 2793–2867, Nov. 2015, doi: 10.1093/eurheartj/ehv316.
- [3] R. D. Goldstein *et al.*, “Inconsistent classification of unexplained sudden deaths in infants and children hinders surveillance, prevention and research: recommendations from The 3rd International Congress on Sudden Infant and Child Death,” *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, vol. 15, no. 4. Springer, pp. 622–628, Dec. 01, 2019, doi: 10.1007/s12024-019-00156-9.
- [4] M. H. Kong *et al.*, “Systematic review of the incidence of sudden cardiac death in the United States,” *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 57, no. 7. J Am Coll Cardiol, pp. 794–801, Feb. 15, 2011, doi: 10.1016/j.jacc.2010.09.064.
- [5] M. Hayashi, W. Shimizu, and C. M. Albert, “The Spectrum of Epidemiology Underlying Sudden Cardiac Death,” *Circ. Res.*, vol. 116, no. 12, pp. 1887–1906, 2015, doi: 10.1161/circresaha.116.304521.
- [6] R. J. Myerburg, “Sudden cardiac death: Exploring the limits of our knowledge,” *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, vol. 12, no. 3. Futura Publishing Company Inc., pp. 369–381, 2001, doi: 10.1046/j.1540-8167.2001.00369.x.
- [7] C. X. Wong *et al.*, “Epidemiology of Sudden Cardiac Death: Global and Regional Perspectives,” *Heart. Lung Circ.*, vol. 28, no. 1, pp. 6–14, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.hlc.2018.08.026.
- [8] N. Murakoshi and K. Aonuma, “Epidemiology of arrhythmias and sudden cardiac death in Asia,” *Circ. J.*, vol. 77, no. 10, pp. 2419–2431, 2013, doi: 10.1253/circj.CJ-13-1129.
- [9] Ignacio Fernández Lozano, Pablo Loma-Orsorio, Carmen Martín Muñoz, Manuel Anguita Sánchez, and Carlos Macaya Miguel, “Muerte súbita y cardioprotección en España,” 2018.
- [10] T. J. Mathews, M. F. Macdorman, and M. E. Thoma, “Infant Mortality Statistics From the 2013 Period Linked Birth/Infant Death Data Set Non-Hispanic black Total Non-Hispanic white Hispanic,” 2013.
- [11] R. Puranik, C. K. Chow, J. A. Duflou, M. J. Kilborn, and M. A. McGuire, “Sudden death in the young,” *Hear. Rhythm*, vol. 2, no. 12, pp. 1277–1282, Dec. 2005, doi: 10.1016/j.hrthm.2005.09.008.
- [12] M. Papadakis, S. Sharma, S. Cox, M. N. Sheppard, V. F. Panoulas, and E. R. Behr, “The magnitude of sudden cardiac death in the young: A death certificate-based review in England and Wales,” *Europace*, vol. 11, no. 10, pp. 1353–1358, Oct. 2009, doi: 10.1093/europace/eup229.
- [13] B. G. Winkel *et al.*, “Nationwide study of sudden cardiac death in persons aged 1–35 years,” *Eur. Heart J.*, vol. 32, no. 8, pp. 983–990, Apr. 2011, doi: 10.1093/eurheartj/ehq428.
- [14] “CIE-11.” <https://icd.who.int/es> (accessed Aug. 12, 2020).
- [15] R. Deo and C. M. Albert, “Epidemiology and genetics of sudden cardiac death,” *Circulation*, vol. 125, no. 4, pp. 620–637, Jan. 2012, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.023838.
- [16] “Las 10 principales causas de defunción.” <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed Aug. 12, 2020).
- [17] “Defunciones según la Causa de Muerte Año 2018 Principales causas de muerte por grupos de enfermedades 1.”
- [18] E. Hookana *et al.*, “Causes of nonischemic sudden cardiac death in the current era,” *Hear. Rhythm*, vol. 8, no. 10, pp. 1570–1575, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.hrthm.2011.06.031.

- [19] N. Lahrouchi, E. R. Behr, and C. R. Bezzina, "Next-Generation Sequencing in Post-mortem Genetic Testing of Young Sudden Cardiac Death Cases," *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, vol. 3. Frontiers Media S.A., p. 1, May 30, 2016, doi: 10.3389/fcvm.2016.00013.
- [20] S. G. Priori, C. Blomström-Lundqvist, and A. Mazzanti, "2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death," *Eur. Heart J.*, vol. 8, no. 9, pp. 746–837, 2015, doi: 10.1093/europace/eul108.
- [21] O. Campuzano, G. Sarquella-Brugada, R. Brugada, and J. Brugada, "Genetics of channelopathies associated with sudden cardiac death," *Glob. Cardiol. Sci. Pract.*, vol. 2015, no. 3, p. 39, 2015, doi: 10.5339/gcsp.2015.39.
- [22] J. S. Lucena, "Sudden cardiac death," *Forensic Sciences Research*, vol. 4, no. 3. Taylor and Francis Ltd., pp. 199–201, 2019, doi: 10.1080/20961790.2019.1622062.
- [23] B. J. Maron, J. J. Doerer, T. S. Haas, D. M. Tierney, and F. O. Mueller, "Sudden deaths in young competitive athletes analysis of 1866 deaths in the united states, 1980-2006," *Circulation*, vol. 119, no. 8, pp. 1085–1092, Mar. 2009, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.804617.
- [24] Pedro Manonelles Marquetaa, Beatriz Aguilera Tapiab, Araceli Boraita Pérezc, Emilio Luengo Fernándezd, Carlos Pons de Beristaina, and Ma Paz Suárez Mier, "La muerte súbita en el deporte. Registro en el Estado español | Apunts Sports Medicine," *Apunt. Sport. Med.*, vol. 42, no. 153, pp. 26–35, Jan. 2007, Accessed: Sep. 28, 2020. [Online]. Available: <https://www.apunts.org/es-la-muerte-subita-el-deporte-articulo-X0213371707021534>.
- [25] R. D. Bagnall *et al.*, "Exome-based analysis of cardiac arrhythmia, respiratory control, and epilepsy genes in sudden unexpected death in epilepsy," *Ann. Neurol.*, vol. 79, no. 4, pp. 522–534, Apr. 2016, doi: 10.1002/ana.24596.
- [26] C. A. A. Chahal *et al.*, "Systematic Review of the Genetics of Sudden Unexpected Death in Epilepsy: Potential Overlap With Sudden Cardiac Death and Arrhythmia-Related Genes," *Journal of the American Heart Association*, vol. 9, no. 1. American Heart Association Inc., Jan. 07, 2020, doi: 10.1161/JAHA.119.012264.
- [27] H. F. Krous *et al.*, "Sudden infant death syndrome and unclassified sudden infant deaths: A definitional and diagnostic approach," *Pediatrics*, vol. 114, no. 1. Pediatrics, pp. 234–238, Jul. 2004, doi: 10.1542/peds.114.1.234.
- [28] A. G. Holst *et al.*, "Epilepsy and risk of death and sudden unexpected death in the young: A nationwide study," *Epilepsia*, vol. 54, no. 9, pp. 1613–1620, Sep. 2013, doi: 10.1111/epi.12328.
- [29] G. Mellor *et al.*, "Clinical characteristics and circumstances of death in the sudden arrhythmic death syndrome," *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.*, vol. 7, no. 6, pp. 1078–1083, Dec. 2014, doi: 10.1161/CIRCEP.114.001854.
- [30] B. Risgaard *et al.*, "Sudden cardiac death in young adults with previous hospital-based psychiatric inpatient and outpatient treatment: A nationwide cohort study from Denmark," *J. Clin. Psychiatry*, vol. 76, no. 9, pp. e1122–e1129, Sep. 2015, doi: 10.4088/JCP.14m09742.
- [31] Y. Du, I.-K. Wolf, M. A. Busch, and H. Knopf, "Associations between the use of specific psychotropic drugs and all-cause mortality among older adults in Germany: Results of the mortality follow-up of the German National Health Interview and Examination Survey 1998," *PLoS One*, vol. 14, no. 1, p. e0210695, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0210695.
- [32] Q. Timour, D. Frassati, J. Descotes, P. Chevalier, G. Christé, and M. Chahine, "Sudden death of cardiac origin and psychotropic drugs," *Front. Pharmacol.*, vol. 3, p. 76, 2012, doi: 10.3389/fphar.2012.00076.
- [33] W. A. Ray, S. Meredith, P. B. Thapa, K. G. Meador, K. Hall, and K. T. Murray, "Antipsychotics and the Risk of Sudden Cardiac Death," *Arch. Gen. Psychiatry*, vol. 58, no. 12, p. 1161, Dec. 2001, doi: 10.1001/archpsyc.58.12.1161.
- [34] S. J. Ralph and A. J. Espinet, "Increased All-Cause Mortality by Antipsychotic Drugs: Updated Review and Meta-Analysis in Dementia and General Mental Health Care," *J. Alzheimer's Dis. Reports*, vol. 2, no. 1, pp. 1–26, Feb. 2018, doi: 10.3233/adr-170042.
- [35] Guyton y Hall, *Tratado de fisiología médica*, Decimotercera. Barcelona: Elsevier España, S.L.U., 2016.

- [36] A. C. Garfinkel, J. G. Seidman, and C. E. Seidman, "Genetic Pathogenesis of Hypertrophic and Dilated Cardiomyopathy," *Heart Fail. Clin.*, vol. 14, no. 2, pp. 139–146, Apr. 2018, doi: 10.1016/J.HFC.2017.12.004.
- [37] V. Sequeira, L. L. A. . Nijenkamp, J. A. Regan, and J. van der Velden, "The physiological role of cardiac cytoskeleton and its alterations in heart failure," *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.*, vol. 1838, no. 2, pp. 700–722, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.bbamem.2013.07.011.
- [38] D. E. Rassier, "Sarcomere mechanics in striated muscles: From molecules to sarcomeres to cells," *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, vol. 313, no. 2. American Physiological Society, pp. C134–C145, 2017, doi: 10.1152/ajpcell.00050.2017.
- [39] C. Semsarian, J. Ingles, M. S. Maron, and B. J. Maron, "New perspectives on the prevalence of hypertrophic cardiomyopathy," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 65, no. 12, pp. 1249–1254, 2015, doi: 10.1016/j.jacc.2015.01.019.
- [40] L. Alamo *et al.*, "Effects of myosin variants on interacting-heads motif explain distinct hypertrophic and dilated cardiomyopathy phenotypes," *Elife*, vol. 6, Jun. 2017, doi: 10.7554/eLife.24634.
- [41] A. M. Roberts *et al.*, "Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease," *Sci. Transl. Med.*, vol. 7, no. 270, pp. 270ra6–270ra6, Jan. 2015, doi: 10.1126/scitranslmed.3010134.
- [42] D. Giganti, K. Yan, C. L. Badilla, J. M. Fernandez, and J. Alegre-Cebollada, "Disulfide isomerization reactions in titin immunoglobulin domains enable a mode of protein elasticity," *Nat. Commun.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–11, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41467-017-02528-7.
- [43] B. Burke and C. L. Stewart, "The nuclear lamins: flexibility in function," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 14, no. 1, pp. 13–24, Jan. 2013, doi: 10.1038/nrm3488.
- [44] D. H. MacLennan and E. G. Kranias, "Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 4, no. 7, pp. 566–577, Jul. 2003, doi: 10.1038/nrm1151.
- [45] N. González-Morales, T. K. Holenka, and F. Schöck, "Filamin actin-binding and titin-binding fulfill distinct functions in Z-disc cohesion," *PLOS Genet.*, vol. 13, no. 7, p. e1006880, Jul. 2017, doi: 10.1371/journal.pgen.1006880.
- [46] S. H. Vermij, H. Abriel, and T. A. B. B. van Veen, *Refining the molecular organization of the cardiac intercalated disc*, vol. 113, no. 3. Cardiovasc Res, 2017.
- [47] K. M. Austin *et al.*, "Molecular mechanisms of arrhythmogenic cardiomyopathy," *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 16, no. 9, pp. 519–537, 2019, doi: 10.1038/s41569-019-0200-7.
- [48] E. Agullo-Pascual, M. Cerrone, and M. Delmar, "Arrhythmogenic cardiomyopathy and Brugada syndrome: Diseases of the connexome," *FEBS Lett.*, vol. 588, no. 8, pp. 1322–1330, Apr. 2014, doi: 10.1016/j.febslet.2014.02.008.
- [49] C. BORRMANN, C. GRUND, C. KUHN, I. HOFMANN, S. PIEPERHOFF, and W. FRANKE, "The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates. II. Colocalizations of desmosomal and fascia adhaerens molecules in the intercalated disk," *Eur. J. Cell Biol.*, vol. 85, no. 6, pp. 469–485, Jun. 2006, doi: 10.1016/j.ejcb.2006.02.009.
- [50] D. M. Bers, "Cardiac excitation–contraction coupling," *Nature*, vol. 415, no. 6868, pp. 198–205, Jan. 2002, doi: 10.1038/415198a.
- [51] J. van der Velden and G. J. M. Stienen, "Cardiac Disorders and Pathophysiology of Sarcomeric Proteins," *Physiol. Rev.*, vol. 99, no. 1, pp. 381–426, Jan. 2019, doi: 10.1152/physrev.00040.2017.
- [52] Douglas Zipes, Jose Jalife, and William Stevenson, *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside*, 7th ed. Estados Unidos: Elsevier, 2017.
- [53] "Proyecto ITACA." <https://www.itaca.edu.es/canales-ionicos.htm> (accessed Sep. 12, 2020).
- [54] J. Payandeh, T. Scheuer, N. Zheng, and W. A. Catterall, "The crystal structure of a voltage-gated sodium channel," *Nature*, vol. 475, no. 7356, pp. 353–359, Jul. 2011, doi: 10.1038/nature10238.
- [55] Juan Tamargo and Eva Delpón, *Chapter 54. Pharmacologic Bases of Antiarrhythmic Therapy. En:*

*Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside.*, 6th ed. Philadelphia, 2013.

- [56] BERTIL HILLE, *Ion Channels of Excitable Membranes*, Third Edition. Sunderland, Massachusetts U.S.A: Sinauer Associates, Inc., 2001.
- [57] J. M. Nerbonne and R. S. Kass, "Molecular physiology of cardiac repolarization," *Physiological Reviews*, vol. 85, no. 4. *Physiol Rev*, pp. 1205–1253, Oct. 2005, doi: 10.1152/physrev.00002.2005.
- [58] Ihor Gussak and Charles Antzelevitch (Eds.), *Electrical Diseases of the Heart*, Second Edition. London: Springer-Verlag, 2013.
- [59] Brian F Hoffman and Paul F Cranefield, *Electrophysiology of the Heart*. New York: McGraw-Hill Inc.,US, 1960.
- [60] A. G. Kléber and Y. Rudy, "Basic Mechanisms of Cardiac Impulse Propagation and Associated Arrhythmias," *Physiological Reviews*, vol. 84, no. 2. *Physiol Rev*, pp. 431–488, Apr. 2004, doi: 10.1152/physrev.00025.2003.
- [61] Y. Tsuji, J. Heijman, S. Nattel, and D. Dobrev, "Electrical storm: Recent pathophysiological insights and therapeutic consequences," *Basic Research in Cardiology*, vol. 108, no. 2. 2013, doi: 10.1007/s00395-013-0336-2.
- [62] L. Gaztañaga, F. E. Marchlinski, and B. P. Betensky, "Mecanismos de las arritmias cardíacas," *Rev. Esp. Cardiol.*, vol. 65, no. 2, pp. 174–185, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.recesp.2011.09.018.
- [63] S. G. Priori and S. R. W. Chen, "Inherited dysfunction of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> handling and arrhythmogenesis," *Circulation Research*, vol. 108, no. 7. Lippincott Williams & WilkinsHagerstown, MD, pp. 871–883, Apr. 01, 2011, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.226845.
- [64] Q. Aziz, Y. Li, and A. Tinker, "Potassium channels in the sinoatrial node and their role in heart rate control," *Channels*, vol. 12, no. 1, pp. 356–366, Jan. 2018, doi: 10.1080/19336950.2018.1532255.
- [65] D. DiFrancesco, "Funny channels in the control of cardiac rhythm and mode of action of selective blockers," *Pharmacological Research*, vol. 53, no. 5. Academic Press, pp. 399–406, May 01, 2006, doi: 10.1016/j.phrs.2006.03.006.
- [66] W. H. Abelmann, "Classification and natural history of primary myocardial disease," *Prog. Cardiovasc. Dis.*, vol. 27, no. 2, pp. 73–94, 1984, doi: 10.1016/0033-0620(84)90020-3.
- [67] W. Brigden, "UNCOMMON MYOCARDIAL DISEASES THE NON-CORONARY CARDIOMYOPATHIES," *Lancet*, vol. 270, no. 7007, pp. 1179–1184, Dec. 1957, doi: 10.1016/S0140-6736(57)90159-9.
- [68] J. F. Goodwin, H. Gordon, A. Hollman, and M. B. Bishop, "Clinical Aspects of Cardiomyopathy," *Br. Med. J.*, vol. 1, no. 5219, pp. 69–79, Jan. 1961, doi: 10.1136/bmj.1.5219.69.
- [69] C. M. Oakley, "Report of the WHO/ISFC task force on the definition and classification of cardiomyopathies," *Br. Heart J.*, vol. 44, no. 6, pp. 672–673, 1980, doi: 10.1136/hrt.44.6.672.
- [70] A. A. T. Geisterfer-Lowrance *et al.*, "A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: A  $\beta$  cardiac myosin heavy chain gene missense mutation," *Cell*, vol. 62, no. 5, pp. 999–1006, Sep. 1990, doi: 10.1016/0092-8674(90)90274-I.
- [71] T. M. Olson, V. V. Michels, S. N. Thibodeau, Y. S. Tai, and M. T. Keating, "Actin mutations in dilated cardiomyopathy, a heritable form of heart failure," *Science (80- )*, vol. 280, no. 5364, pp. 750–752, May 1998, doi: 10.1126/science.280.5364.750.
- [72] P. Richardson *et al.*, "Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies," *Circulation*, vol. 93, no. 5, pp. 841–842, Mar. 1996, doi: 10.1161/01.CIR.93.5.841.
- [73] B. J. Maron *et al.*, "Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: An American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention," *Circulation*, vol. 113, no. 14, pp. 1807–1816, Apr. 2006, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.174287.



- [74] P. Elliott *et al.*, “Classification of the cardiomyopathies: A position statement from the european society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases,” *Eur. Heart J.*, vol. 29, no. 2, pp. 270–276, Jan. 2008, doi: 10.1093/eurheartj/ehm342.
- [75] B. J. Gersh *et al.*, “2011 ACCF/AHA Guideline for the Diagnosis and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Developed in Collaboration With the American Ass,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 58, no. 25, pp. e212–e260, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2011.06.011>.
- [76] S. G. Priori *et al.*, “HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes: document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013,” *Heart. Rhythm*, vol. 10, no. 12, pp. 1932–1963, 2013, doi: 10.1016/j.hrthm.2013.05.014.
- [77] P. M. Elliott *et al.*, “2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC),” *Eur Heart. J.*, vol. 35, no. 39, pp. 2733–2779, 2014, doi: 10.1093/eurheartj/ehu284.
- [78] J. A. Towbin *et al.*, “2019 HRS expert consensus statement on evaluation, risk stratification, and management of arrhythmogenic cardiomyopathy,” *Heart. Rhythm*, vol. 16, no. 11, pp. e301–e372, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.hrthm.2019.05.007.
- [79] J. G. Westphal *et al.*, “The MOGE(S) classification for cardiomyopathies: current status and future outlook,” *Heart Fail. Rev.*, vol. 22, no. 6, pp. 743–752, Nov. 2017, doi: 10.1007/s10741-017-9641-4.
- [80] Y. Zou *et al.*, “Prevalence of idiopathic hypertrophic cardiomyopathy in China: A population-based echocardiographic analysis of 8080 adults,” *Am. J. Med.*, vol. 116, no. 1, pp. 14–18, Jan. 2004, doi: 10.1016/j.amjmed.2003.05.009.
- [81] P. Charron *et al.*, “Diagnostic value of electrocardiography and echocardiography for familial hypertrophic cardiomyopathy in a genotyped adult population,” *Circulation*, vol. 96, no. 1, pp. 214–219, Jul. 1997, doi: 10.1161/01.CIR.96.1.214.
- [82] B. J. Maron, “Contemporary insights and strategies for risk stratification and prevention of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy,” *Circulation*, vol. 121, no. 3, pp. 445–456, Jan. 26, 2010, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.878579.
- [83] S. E. Lipshultz *et al.*, “The incidence of pediatric cardiomyopathy in two regions of the United States,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 348, no. 17, pp. 1647–1655, Apr. 2003, doi: 10.1056/NEJMoa021715.
- [84] A. W. Nugent *et al.*, “Clinical features and outcomes of childhood hypertrophic cardiomyopathy: Results from a national population-based study,” *Circulation*, vol. 112, no. 9, pp. 1332–1338, Aug. 2005, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.530303.
- [85] B. J. Maron *et al.*, “Relationship of race to sudden cardiac death in competitive athletes with hypertrophic cardiomyopathy,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 41, no. 6, pp. 974–980, Mar. 2003, doi: 10.1016/S0735-1097(02)02976-5.
- [86] “SCD HCM risk calculator\_V2.” <https://doc2do.com/hcm/webHCM.html> (accessed Aug. 24, 2020).
- [87] R. Barriales-Villa *et al.*, “Plan of Action for Inherited Cardiovascular Diseases: Synthesis of Recommendations and Action Algorithms,” *Rev. española Cardiol. (English ed.)*, vol. 69, no. 3, pp. 300–9, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.rec.2015.11.029.
- [88] K. Poetter *et al.*, “Mutations in either the essential or regulatory light chains of myosin are associated with a rare myopathy in human heart and skeletal muscle,” *Nat. Genet.*, vol. 13, no. 1, pp. 63–69, May 1996, doi: 10.1038/ng0596-63.
- [89] J. Erdmann *et al.*, “Mutation spectrum in a large cohort of unrelated consecutive patients with hypertrophic cardiomyopathy,” *Clin. Genet.*, vol. 64, no. 4, pp. 339–349, Oct. 2003, doi: 10.1034/j.1399-0004.2003.00151.x.
- [90] P. Richard *et al.*, “Hypertrophic cardiomyopathy: Distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy,” *Circulation*, vol. 107, no. 17, pp. 2227–2232, May 2003, doi: 10.1161/01.CIR.0000066323.15244.54.

- [91] J. P. Kaski *et al.*, “Prevalence of sarcomere protein gene mutations in preadolescent children with hypertrophic cardiomyopathy,” *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 2, no. 5, pp. 436–441, Oct. 2009, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.108.821314.
- [92] G. Millat *et al.*, “Prevalence and spectrum of mutations in a cohort of 192 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy,” *Eur. J. Med. Genet.*, vol. 53, no. 5, pp. 261–267, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.ejmg.2010.07.007.
- [93] C. Geier *et al.*, “Beyond the sarcomere: CSRP3 mutations cause hypertrophic cardiomyopathy,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 17, no. 18, pp. 2753–2765, 2008, doi: 10.1093/hmg/ddn160.
- [94] A. P. Landstrom *et al.*, “Mutations in JPH2-encoded junctophilin-2 associated with hypertrophic cardiomyopathy in humans,” *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 42, no. 6, pp. 1026–1035, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.yjmcc.2007.04.006.
- [95] R. Walsh *et al.*, “Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples,” 2017, doi: 10.1038/gim.2016.90.
- [96] J. Ingles *et al.*, “Evaluating the Clinical Validity of Hypertrophic Cardiomyopathy Genes,” *Circ. Genomic Precis. Med.*, vol. 12, no. 2, pp. 57–64, Feb. 2019, doi: 10.1161/CIRCGEN.119.002460.
- [97] K. Musunuru *et al.*, “Genetic Testing for Inherited Cardiovascular Diseases: A Scientific Statement From the American Heart Association,” *Circ. Genomic Precis. Med.*, vol. 13, p. 67, Jul. 2020, doi: 10.1161/hcg.0000000000000067.
- [98] A. Branzi *et al.*, “Genetic heterogeneity of hypertrophic cardiomyopathy,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 7, no. 2, pp. 129–133, 1985, doi: 10.1016/0167-5273(85)90352-3.
- [99] H. Hartmannova *et al.*, “Isolated X-linked hypertrophic cardiomyopathy caused by a novel mutation of the four-and-a-half LIM domain 1 gene,” *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 6, no. 6, pp. 543–551, Dec. 2013, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000245.
- [100] S. N. Manivannan *et al.*, “Novel frameshift variant in MYL2 reveals molecular differences between dominant and recessive forms of hypertrophic cardiomyopathy,” *PLoS Genet.*, vol. 16, no. 5, May 2020, doi: 10.1371/journal.pgen.1008639.
- [101] R. H. Lekanne Deprez *et al.*, “Two cases of severe neonatal hypertrophic cardiomyopathy caused by compound heterozygous mutations in the MYBPC3 gene,” *J. Med. Genet.*, vol. 43, no. 10, pp. 829–832, Oct. 2006, doi: 10.1136/jmg.2005.040329.
- [102] F. Girolami *et al.*, “Clinical Features and Outcome of Hypertrophic Cardiomyopathy Associated With Triple Sarcomere Protein Gene Mutations,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 55, no. 14, pp. 1444–1453, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.jacc.2009.11.062.
- [103] B. J. Maron, M. S. Maron, and C. Semsarian, “Double or compound sarcomere mutations in hypertrophic cardiomyopathy: A potential link to sudden death in the absence of conventional risk factors,” *Heart Rhythm*, vol. 9, no. 1, pp. 57–63, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.hrthm.2011.08.009.
- [104] A. Hodatsu *et al.*, “Compound heterozygosity deteriorates phenotypes of hypertrophic cardiomyopathy with founder MYBPC3 mutation: Evidence from patients and zebrafish models,” *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.*, vol. 307, no. 11, pp. H1594–H1604, Dec. 2014, doi: 10.1152/ajpheart.00637.2013.
- [105] A. A. Alfares *et al.*, “Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: Expanded panels offer limited additional sensitivity,” *Genet. Med.*, vol. 17, no. 11, pp. 880–888, Nov. 2015, doi: 10.1038/gim.2014.205.
- [106] L. Li, M. N. Bainbridge, Y. Tan, J. T. Willerson, and A. J. Marian, “A potential oligogenic etiology of hypertrophic cardiomyopathy: a classic single-gene disorder,” *Circ. Res.*, vol. 120, no. 7, pp. 1084–1090, Mar. 2017, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310559.
- [107] D. García-Giustiniani *et al.*, “Phenotype and prognostic correlations of the converter region mutations affecting the  $\beta$  myosin heavy chain,” *Heart*, vol. 101, no. 13, pp. 1047–1053, Jul. 2015, doi: 10.1136/heartjnl-2014-307205.
- [108] C. D. Vera *et al.*, “Myosin motor domains carrying mutations implicated in early or late onset hypertrophic cardiomyopathy have similar properties,” *J. Biol. Chem.*, vol. 294, no. 46, pp. 17451–17462, Nov. 2019,

- doi: 10.1074/jbc.RA119.010563.
- [109] A. J. Marian and E. Braunwald, "Hypertrophic Cardiomyopathy," *Circ. Res.*, vol. 121, no. 7, pp. 749–770, Sep. 2017, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311059.
  - [110] A. J. Marian, "Causality in genetics : The gradient of genetic effects and back to Koch's postulates of causality," *Circulation Research*, vol. 114, no. 2. Lippincott Williams and Wilkins, pp. e18–e21, Jan. 17, 2014, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.302904.
  - [111] J. Robert-Paganin, D. Auguin, and A. Houdusse, "Hypertrophic cardiomyopathy disease results from disparate impairments of cardiac myosin function and auto-inhibition," doi: 10.1038/s41467-018-06191-4.
  - [112] D. E. Michele, C. A. Gomez, K. E. Hong, M. V. Westfall, and J. M. Metzger, "Cardiac dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy mutant tropomyosin mice is transgene-dependent, hypertrophy-independent, and improved by  $\beta$ -blockade," *Circ. Res.*, vol. 91, no. 3, pp. 255–262, Aug. 2002, doi: 10.1161/01.RES.0000027530.58419.82.
  - [113] T. Miller *et al.*, "Abnormal Contractile Function in Transgenic Mice Expressing a Familial Hypertrophic Cardiomyopathy-linked Troponin T (I79N) Mutation," *J. Biol. Chem.*, vol. 276, no. 6, pp. 3743–3755, Feb. 2001, doi: 10.1074/jbc.M006746200.
  - [114] R. Prabhakar *et al.*, "A familial hypertrophic cardiomyopathy  $\alpha$ -tropomyosin mutation causes severe cardiac hypertrophy and death in mice," *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 33, no. 10, pp. 1815–1828, 2001, doi: 10.1006/jmcc.2001.1445.
  - [115] K. M. Dieseldorff Jones *et al.*, "Pathogenic troponin T mutants with opposing effects on myofilament  $\text{Ca}^{2+}$  sensitivity attenuate cardiomyopathy phenotypes in mice," *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 661, pp. 125–131, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.abb.2018.11.006.
  - [116] F. Takahashi-Yanaga *et al.*, "Functional consequences of the mutations in human cardiac troponin I gene found in familial hypertrophic cardiomyopathy," *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 33, no. 12, pp. 2095–2107, Dec. 2001, doi: 10.1006/jmcc.2001.1473.
  - [117] M. S. Parvatiyar, A. P. Landstrom, C. Figueiredo-Freitas, J. D. Potter, M. J. Ackerman, and J. R. Pinto, "A mutation in TNNC1-encoded cardiac troponin C, TNNC1-A31S, predisposes to hypertrophic cardiomyopathy and ventricular fibrillation," *J. Biol. Chem.*, vol. 287, no. 38, pp. 31845–31855, Sep. 2012, doi: 10.1074/jbc.M112.377713.
  - [118] N. Fujino *et al.*, "A novel mutation Lys273Glu in the cardiac troponin T gene shows high degree of penetrance and transition from hypertrophic to dilated cardiomyopathy," *Am. J. Cardiol.*, vol. 89, no. 1, pp. 29–33, Jan. 2002, doi: 10.1016/S0002-9149(01)02158-0.
  - [119] Y. M. Hoedemaekers *et al.*, "Cardiac  $\beta$ -myosin heavy chain defects in two families with non-compaction cardiomyopathy: Linking non-compaction to hypertrophic, restrictive, and dilated cardiomyopathies," *Eur. Heart J.*, vol. 28, no. 22, pp. 2732–2737, Nov. 2007, doi: 10.1093/eurheartj/ehm429.
  - [120] L. M. Dellefave *et al.*, "Sarcomere mutations in cardiomyopathy with left ventricular hypertrabeculation," *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 2, no. 5, pp. 442–449, Oct. 2009, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.861955.
  - [121] E. P. Debold *et al.*, "Hypertrophic and dilated cardiomyopathy mutations differentially affect the molecular force generation of mouse  $\alpha$ -cardiac myosin in the laser trap assay," *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 293, no. 1, Jul. 2007, doi: 10.1152/ajpheart.00128.2007.
  - [122] R. Lombardi *et al.*, "Differential interactions of thin filament proteins in two cardiac troponin T mouse models of hypertrophic and dilated cardiomyopathies," *Cardiovasc. Res.*, vol. 79, no. 1, pp. 109–117, Jul. 2008, doi: 10.1093/cvr/cvn078.
  - [123] J. A. J. Verdonschot *et al.*, "A mutation update for the *FLNC* gene in myopathies and cardiomyopathies," *Hum. Mutat.*, vol. 41, no. 6, pp. 1091–1111, Jun. 2020, doi: 10.1002/humu.24004.
  - [124] S. Neubauer *et al.*, "Distinct Subgroups in Hypertrophic Cardiomyopathy in the NHLBI HCM Registry," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 74, no. 19, pp. 2333–2345, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.jacc.2019.08.1057.
  - [125] J. Binder *et al.*, "Echocardiography-Guided Genetic Testing in Hypertrophic Cardiomyopathy: Septal



- Morphological Features Predict the Presence of Myofilament Mutations,” *Mayo Clin. Proc.*, vol. 81, no. 4, pp. 459–467, Apr. 2006, doi: 10.4065/81.4.459.
- [126] A. O. H. Mocumbi and A. O. Falase, “Recent advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of endomyocardial fibrosis in Africa,” *Heart*, vol. 99, no. 20, pp. 1481–7, Oct. 2013, doi: 10.1136/heartjnl-2012-303193.
- [127] N. L. Pereira, M. Grogan, and G. W. Dec, “Spectrum of Restrictive and Infiltrative Cardiomyopathies: Part 1 of a 2-Part Series,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 71, no. 10, pp. 1130–1148, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.JACC.2018.01.016.
- [128] S. S. Kushwaha, J. T. Fallon, and V. Fuster, “Restrictive Cardiomyopathy,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 336, no. 4, pp. 267–276, Jan. 1997, doi: 10.1056/NEJM199701233360407.
- [129] M. E. Layoun, J. Desmarais, S. B. Heitner, and A. Masri, “Hot hearts on bone scintigraphy are not all amyloidosis: hydroxychloroquine-induced restrictive cardiomyopathy,” *Eur. Heart J.*, Feb. 2020, doi: 10.1093/eurheartj/ehaa091.
- [130] J. Mogensen *et al.*, “Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations,” *J. Clin. Invest.*, vol. 111, no. 2, pp. 209–216, Jan. 2003, doi: 10.1172/JCI16336.
- [131] S. C. Menon *et al.*, “Cardiac troponin T mutation in familial cardiomyopathy with variable remodeling and restrictive physiology,” *Clin. Genet.*, vol. 74, no. 5, pp. 445–54, Nov. 2008, doi: 10.1111/j.1399-0004.2008.01062.x.
- [132] J. P. Kaski *et al.*, “Idiopathic restrictive cardiomyopathy in children is caused by mutations in cardiac sarcomere protein genes,” *Heart*, vol. 94, no. 11, pp. 1478–1484, Jul. 2008, doi: 10.1136/hrt.2007.134684.
- [133] A. Kostareva *et al.*, “Deletion in TNNI3 gene is associated with restrictive cardiomyopathy,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 131, no. 3, pp. 410–412, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.ijcard.2007.07.108.
- [134] E. Purevjav *et al.*, “Molecular basis for clinical heterogeneity in inherited cardiomyopathies due to myopalladin mutations,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 21, no. 9, pp. 2039–2053, May 2012, doi: 10.1093/hmg/dds022.
- [135] M. Gallego-Delgado *et al.*, “Idiopathic Restrictive Cardiomyopathy Is Primarily a Genetic Disease,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 67, no. 25, pp. 3021–3023, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.jacc.2016.04.024.
- [136] A. Kostareva *et al.*, “Genetic Spectrum of Idiopathic Restrictive Cardiomyopathy Uncovered by Next-Generation Sequencing,” *PLoS One*, vol. 11, no. 9, p. e0163362, Sep. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0163362.
- [137] L.-L. Fan *et al.*, “Whole Exome Sequencing Identified a 13 Base Pair MYH7 Deletion-mutation in a Patient with Restrictive Cardiomyopathy and Left Ventricle Hypertrophy,” *Ann. Clin. Lab. Sci.*, vol. 49, no. 6, pp. 838–840, Nov. 2019, Accessed: Feb. 25, 2020. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31882438>.
- [138] M. De Bortoli *et al.*, “A Novel Missense Variant in MYL2 Gene Associated with Hypertrophic Cardiomyopathy Showing High Incidence of Restrictive Physiology,” *Circ. Genomic Precis. Med.*, Jan. 2020, doi: 10.1161/CIRCGEN.119.002824.
- [139] M. C. Dalakas, K.-Y. Park, C. Semino-Mora, H. S. Lee, K. Sivakumar, and L. G. Goldfarb, “Desmin Myopathy, a Skeletal Myopathy with Cardiomyopathy Caused by Mutations in the Desmin Gene,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 342, no. 11, pp. 770–780, Mar. 2000, doi: 10.1056/NEJM200003163421104.
- [140] J. Zhang *et al.*, “Clinical and molecular studies of a large family with desmin-associated restrictive cardiomyopathy,” *Clin. Genet.*, vol. 59, no. 4, pp. 248–256, Jan. 2002, doi: 10.1034/j.1399-0004.2001.590406.x.
- [141] A. Brodehl *et al.*, “The novel  $\alpha$ B-crystallin ( *CRYAB* ) mutation p.D109G causes restrictive cardiomyopathy,” *Hum. Mutat.*, vol. 38, no. 8, pp. 947–952, Aug. 2017, doi: 10.1002/humu.23248.
- [142] R. E. Hershberger *et al.*, “Genetic evaluation of cardiomyopathy: a clinical practice resource of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG),” vol. 20, no. 9, pp. 899–909, Sep. 2018, doi: 10.1038/s41436-018-0039-z.
- [143] T. Kubo *et al.*, “Prevalence, Clinical Significance, and Genetic Basis of Hypertrophic Cardiomyopathy

- With Restrictive Phenotype,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 49, no. 25, pp. 2419–2426, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.jacc.2007.02.061.
- [144] A. V. Gomes, J. Liang, and J. D. Potter, “Mutations in Human Cardiac Troponin I That Are Associated with Restrictive Cardiomyopathy Affect Basal ATPase Activity and the Calcium Sensitivity of Force Development,” *J. Biol. Chem.*, vol. 280, no. 35, pp. 30909–30915, Sep. 2005, doi: 10.1074/jbc.M500287200.
- [145] F. Yumoto *et al.*, “Drastic Ca<sup>2+</sup> sensitization of myofilament associated with a small structural change in troponin I in inherited restrictive cardiomyopathy,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 338, no. 3, pp. 1519–1526, Dec. 2005, doi: 10.1016/j.bbrc.2005.10.116.
- [146] N. E. Bowles, K. R. Bowles, and J. A. Towbin, “The ‘final common pathway’ hypothesis and inherited cardiovascular disease: The role of cytoskeletal proteins in dilated cardiomyopathy,” *Herz*, vol. 25, no. 3, pp. 168–175, May 2000, doi: 10.1007/s000590050003.
- [147] T. Xu *et al.*, “Compound and Digenic Heterozygosity Contributes to Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 55, no. 6, pp. 587–597, Feb. 2010, doi: 10.1016/j.jacc.2009.11.020.
- [148] I. Rigato *et al.*, “Compound and digenic heterozygosity predicts lifetime arrhythmic outcome and sudden cardiac death in desmosomal gene-related arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy,” *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 6, no. 6, pp. 533–542, Dec. 2013, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000288.
- [149] A. Bhonsale *et al.*, “Impact of genotype on clinical course in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated mutation carriers,” *Eur. Heart J.*, vol. 36, no. 14, pp. 847–855, Apr. 2015, doi: 10.1093/eurheartj/ehu509.
- [150] J. Mates *et al.*, “Role of copy number variants in sudden cardiac death and related diseases: genetic analysis and translation into clinical practice,” *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 26, no. 7, pp. 1014–1025, Jul. 2018, doi: 10.1038/s41431-018-0119-1.
- [151] S. Sen-Chowdhry *et al.*, “Left-Dominant Arrhythmogenic Cardiomyopathy,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 52, no. 25, pp. 2175–2187, Dec. 2008, doi: 10.1016/j.jacc.2008.09.019.
- [152] F. I. Marcus *et al.*, “Diagnosis of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia: Proposed Modification of the Task Force Criteria,” *Circulation*, vol. 121, no. 13, pp. 1533–1541, 2010, doi: 10.1161/circulationaha.108.840827.
- [153] S. V. De Noronha, S. Sharma, M. Papadakis, S. Desai, G. Whyte, and M. N. Sheppard, “Aetiology of sudden cardiac death in athletes in the United Kingdom: A pathological study,” *Heart*, vol. 95, no. 17, pp. 1409–1414, Sep. 2009, doi: 10.1136/hrt.2009.168369.
- [154] R. E. Eckart *et al.*, “Sudden death in young adults: An autopsy-based series of a population undergoing active surveillance,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 58, no. 12, pp. 1254–1261, Sep. 2011, doi: 10.1016/j.jacc.2011.01.049.
- [155] P. Molina, J. Sanz-Sánchez, M. Fenollosa, M. Martínez-Matilla, J. Giner, and E. Zorio, “Arrhythmogenic cardiomyopathy with left ventricular involvement versus ischemic heart disease: lessons learned from the family study and the reviewed autopsy of a young male,” *Forensic Sci. Res.*, vol. 4, no. 3, pp. 274–279, 2019, doi: 10.1080/20961790.2019.1616247.
- [156] G. Thiene, A. Nava, D. Corrado, L. Rossi, and N. Pennelli, “Right Ventricular Cardiomyopathy and Sudden Death in Young People,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 318, no. 3, pp. 129–133, Jan. 1988, doi: 10.1056/NEJM198801213180301.
- [157] A. Tabib *et al.*, “Circumstances of Death and Gross and Microscopic Observations in a Series of 200 Cases of Sudden Death Associated with Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy and/or Dysplasia,” *Circulation*, vol. 108, no. 24, pp. 3000–3005, Dec. 16, 2003, doi: 10.1161/01.CIR.0000108396.65446.21.
- [158] J. Romero, E. Mejia-Lopez, C. Manrique, and R. Lucariello, “Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC/D): A systematic literature review,” *Clin. Med. Insights Cardiol.*, vol. 7, no. 7, pp. 97–114, May 2013, doi: 10.4137/CMC.S10940.
- [159] A. Nava *et al.*, “Clinical profile and long-term follow-up of 37 families with arrhythmogenic right

- ventricular cardiomyopathy,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 36, no. 7, pp. 2226–2233, 2000, doi: 10.1016/S0735-1097(00)00997-9.
- [160] F. I. Marcus *et al.*, “Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia clinical presentation and diagnostic evaluation: Results from the North American Multidisciplinary Study,” *Hear. Rhythm*, vol. 6, no. 7, pp. 984–992, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.hrthm.2009.03.013.
- [161] J. A. Groeneweg *et al.*, “Clinical Presentation, Long-Term Follow-Up, and Outcomes of 1001 Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy Patients and Family Members,” *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 8, no. 3, pp. 437–446, Jun. 2015, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.114.001003.
- [162] G. Thiene, A. Nava, A. Angelini, L. Daliento, R. Scognamiglio, and D. Corrado, “Anatomoclinical Aspects of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy,” in *Advances in Cardiomyopathies*, Springer Berlin Heidelberg, 1990, pp. 397–408.
- [163] J. Cadrin-Tourigny *et al.*, “A new prediction model for ventricular arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy,” *Eur. Heart J.*, vol. 40, no. 23, pp. 1850–1858, Jun. 2019, doi: 10.1093/eurheartj/ehz103.
- [164] E. Sommariva, I. Stadiotti, G. L. Perrucci, C. Tondo, and G. Pompilio, “Cell models of arrhythmogenic cardiomyopathy: Advances and opportunities,” *DMM Disease Models and Mechanisms*, vol. 10, no. 7. Company of Biologists Ltd, pp. 823–835, Jul. 01, 2017, doi: 10.1242/dmm.029363.
- [165] C. Basso, B. Bauce, D. Corrado, and G. Thiene, “Pathophysiology of arrhythmogenic cardiomyopathy,” *Nature Reviews Cardiology*, vol. 9, no. 4. Nat Rev Cardiol, pp. 223–233, Apr. 2012, doi: 10.1038/nrcardio.2011.173.
- [166] S. Pieperhoff, H. Schumacher, and W. W. Franke, “The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates. V. The importance of plakophilin-2 demonstrated by small interference RNA-mediated knockdown in cultured rat cardiomyocytes,” *Eur. J. Cell Biol.*, vol. 87, no. 7, pp. 399–411, Jul. 2008, doi: 10.1016/j.ejcb.2007.12.002.
- [167] D. Li *et al.*, “Restrictive loss of plakoglobin in cardiomyocytes leads to arrhythmogenic cardiomyopathy,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 20, no. 23, pp. 4582–4596, Dec. 2011, doi: 10.1093/hmg/ddr392.
- [168] M. G. P. J. Cox *et al.*, “Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy,” *Circulation*, vol. 123, no. 23, pp. 2690–2700, Jun. 2011, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.988287.
- [169] G. Quarta *et al.*, “Familial evaluation in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Impact of genetics and revised task force criteria,” *Circulation*, vol. 123, no. 23, pp. 2701–2709, Jun. 2011, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.976936.
- [170] J. Kapplinger, A. Landstrom, J. M. Bos, B. Salisbury, T. Callis, and M. Ackerman, “Distinguishing Hypertrophic Cardiomyopathy-Associated Mutations from Background Genetic Noise,” *J. Cardiovasc. Transl. Res.*, vol. 7, no. 3, pp. 347–361, 2014, doi: 10.1007/s12265-014-9542-z.
- [171] P. Syrris *et al.*, “Desmoglein-2 mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: A genotype-phenotype characterization of familial disease,” *Eur. Heart J.*, vol. 28, no. 5, pp. 581–588, Mar. 2007, doi: 10.1093/eurheartj/ehl380.
- [172] J. P. van Tintelen *et al.*, “Severe cardiac phenotype with right ventricular predominance in a large cohort of patients with a single missense mutation in the DES gene,” *Hear. Rhythm*, vol. 6, no. 11, pp. 1574–1583, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.hrthm.2009.07.041.
- [173] G. Beffagna *et al.*, “Regulatory mutations in transforming growth factor- $\beta$ 3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 65, no. 2, pp. 366–373, Feb. 2005, doi: 10.1016/j.cardiores.2004.10.005.
- [174] N. D. Merner *et al.*, “Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy Type 5 Is a Fully Penetrant, Lethal Arrhythmic Disorder Caused by a Missense Mutation in the TMEM43 Gene,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 82, no. 4, pp. 809–821, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.ajhg.2008.01.010.
- [175] K. L. Turkowski, D. J. Tester, J. M. Bos, K. H. Haugaa, and M. J. Ackerman, “Whole exome sequencing with genomic triangulation implicates *CDH2* -encoded N-cadherin as a novel pathogenic substrate for arrhythmogenic cardiomyopathy,” *Congenit. Heart Dis.*, vol. 12, no. 2, pp. 226–235, Mar. 2017, doi: 10.1111/chd.12462.

- [176] G. Quarta *et al.*, "Mutations in the Lamin A/C gene mimic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy," *Eur. Heart J.*, vol. 33, no. 9, pp. 1128–1136, May 2012, doi: 10.1093/eurheartj/ehr451.
- [177] N. Tiso, "Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2)," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 10, no. 3, pp. 189–194, Feb. 2001, doi: 10.1093/hmg/10.3.189.
- [178] F. Dominguez *et al.*, "Clinical characteristics and determinants of the phenotype in TMEM43 arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 5," *Hear. Rhythm*, vol. 17, no. 6, pp. 945–954, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.hrthm.2020.01.035.
- [179] S. Castelletti *et al.*, "Desmoplakin missense and non-missense mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Genotype-phenotype correlation," *Int. J. Cardiol.*, vol. 249, pp. 268–273, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.ijcard.2017.05.018.
- [180] J. B. Augusto *et al.*, "Dilated cardiomyopathy and arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy: A comprehensive genotype-imaging phenotype study," *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*, vol. 21, no. 3, pp. 326–336, 2020, doi: 10.1093/ehjci/jez188.
- [181] T. Maruthappu *et al.*, "Loss-of-function desmoplakin I and II mutations underlie dominant arrhythmogenic cardiomyopathy with a hair and skin phenotype," *Br. J. Dermatol.*, vol. 180, no. 5, pp. 1114–1122, May 2019, doi: 10.1111/bjd.17388.
- [182] M. G. Hoogendijk, *Diagnostic Dilemmas: Overlapping Features of Brugada Syndrome and Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy*. 2012, p. 144.
- [183] M. Cerrone *et al.*, "Missense Mutations in Plakophilin-2 Cause Sodium Current Deficit and Associate With a Brugada Syndrome Phenotype," *Circulation*, vol. 129, no. 10, pp. 1092–1103, Mar. 2014, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003077.
- [184] D. Keith *et al.*, "Haploinsufficiency of desmoplakin causes a striate subtype of palmoplantar keratoderma," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 8, no. 1, pp. 143–148, Jan. 1999, doi: 10.1093/hmg/8.1.143.
- [185] B. Bauce *et al.*, "Multiple mutations in desmosomal proteins encoding genes in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia," *Hear. Rhythm*, vol. 7, no. 1, pp. 22–29, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.hrthm.2009.09.070.
- [186] G. Quarta *et al.*, "Familial Evaluation in Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy," *Circulation*, vol. 123, no. 23, pp. 2701–2709, Jun. 2011, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.976936.
- [187] E. Gandjbakhch, A. Redheuil, F. Pousset, P. Charron, and R. Frank, "Clinical Diagnosis, Imaging, and Genetics of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 72, no. 7, pp. 784–804, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2018.05.065.
- [188] E. Arbustini, V. Favalli, N. Narula, A. Serio, and M. Grasso, "Left Ventricular Noncompaction: A Distinct Genetic Cardiomyopathy?," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 68, no. 9. Elsevier USA, pp. 949–966, Aug. 30, 2016, doi: 10.1016/j.jacc.2016.05.096.
- [189] N. L. Bhatia, A. J. Tajik, S. Wilansky, D. E. Steidley, and F. Mookadam, "Isolated noncompaction of the left ventricular myocardium in adults: A systematic overview," *Journal of Cardiac Failure*, vol. 17, no. 9. J Card Fail, pp. 771–778, Sep. 2011, doi: 10.1016/j.cardfail.2011.05.002.
- [190] J. I. van Waning *et al.*, "Genetics, Clinical Features, and Long-Term Outcome of Noncompaction Cardiomyopathy," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 71, no. 7, pp. 711–722, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2017.12.019.
- [191] K. Caliskan *et al.*, "The prevalence of early repolarization in patients with noncompaction cardiomyopathy presenting with malignant ventricular arrhythmias," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 23, no. 9, pp. 938–944, Sep. 2012, doi: 10.1111/j.1540-8167.2012.02325.x.
- [192] H. Zhou *et al.*, "Prolonged QTc indicates the clinical severity and poor prognosis in patients with isolated left ventricular non-compaction," *Int. J. Cardiovasc. Imaging*, vol. 33, no. 12, pp. 2013–2020, Dec. 2017, doi: 10.1007/s10554-017-1209-9.
- [193] C. Y. Miyake and J. J. Kim, "Arrhythmias in Left Ventricular Noncompaction," *Cardiac Electrophysiology Clinics*, vol. 7, no. 2. W.B. Saunders, pp. 319–330, Jun. 01, 2015, doi:



- 10.1016/j.ccep.2015.03.007.
- [194] M. Ritter, E. Oechslin, G. Sütsch, C. Attenhofer, J. Schneider, and R. Jenni, "Isolated noncompaction of the myocardium in adults," *Mayo Clin. Proc.*, vol. 72, no. 1, pp. 26–31, 1997, doi: 10.4065/72.1.26.
  - [195] E. Biagini *et al.*, "Different Types of Cardiomyopathy Associated With Isolated Ventricular Noncompaction," *Am. J. Cardiol.*, vol. 98, no. 6, pp. 821–824, Sep. 2006, doi: 10.1016/j.amjcard.2006.04.021.
  - [196] Y. Xing *et al.*, "Genetic analysis in patients with left ventricular noncompaction and evidence for genetic heterogeneity," *Mol. Genet. Metab.*, vol. 88, no. 1, pp. 71–77, May 2006, doi: 10.1016/j.ymgme.2005.11.009.
  - [197] D. Aras *et al.*, "Clinical Features of Isolated Ventricular Noncompaction in Adults Long-Term Clinical Course, Echocardiographic Properties, and Predictors of Left Ventricular Failure," *J. Card. Fail.*, vol. 12, no. 9, pp. 726–733, Dec. 2006, doi: 10.1016/j.cardfail.2006.08.002.
  - [198] J. I. van Waning, J. Moesker, D. Heijnsman, E. Boersma, and D. Majoor-Krakauer, "Systematic Review of Genotype-Phenotype Correlations in Noncompaction Cardiomyopathy," *J. Am. Heart Assoc.*, vol. 8, no. 23, p. e012993, Dec. 2019, doi: 10.1161/JAHA.119.012993.
  - [199] P. Wengrofsky *et al.*, "Left Ventricular Trabeculation and Noncompaction Cardiomyopathy: A Review.," *EC Clin. Exp. Anat.*, vol. 2, no. 6, pp. 267–283, Aug. 2019, Accessed: Dec. 30, 2019. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31799511>.
  - [200] S. B. Bleyl *et al.*, "Neonatal, lethal noncompaction of the left ventricular myocardium is allelic with Barth syndrome," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 61, no. 4, pp. 868–872, Oct. 1997, doi: 10.1086/514879.
  - [201] F. Sedaghat-Hamedani *et al.*, "Clinical genetics and outcome of left ventricular non-compaction cardiomyopathy," *Eur. Heart J.*, vol. 38, no. 46, pp. 3449–3460, Dec. 2017, doi: 10.1093/eurheartj/ehx545.
  - [202] S. Gati *et al.*, "Increased left ventricular trabeculation in highly trained athletes: Do we need more stringent criteria for the diagnosis of left ventricular non-compaction in athletes?," *Heart*, vol. 99, no. 6, pp. 401–408, Mar. 2013, doi: 10.1136/heartjnl-2012-303418.
  - [203] S. Gati *et al.*, "Reversible De Novo Left Ventricular Trabeculations in Pregnant Women," *Circulation*, vol. 130, no. 6, pp. 475–483, Aug. 2014, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.008554.
  - [204] M. Merlo, S. A. Pyxaras, B. Pinamonti, G. Barbatì, A. Di Lenarda, and G. Sinagra, "Prevalence and prognostic significance of left ventricular reverse remodeling in dilated cardiomyopathy receiving tailored medical treatment," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 57, no. 13, pp. 1468–1476, Mar. 2011, doi: 10.1016/j.jacc.2010.11.030.
  - [205] M. Dal Ferro *et al.*, "Association between mutation status and left ventricular reverse remodelling in dilated cardiomyopathy," *Heart*, vol. 103, no. 21, pp. 1704–1710, Nov. 2017, doi: 10.1136/heartjnl-2016-311017.
  - [206] R. E. Hershberger, D. J. Hedges, and A. Morales, "Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture," *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 10, no. 9, pp. 531–547, Sep. 2013, doi: 10.1038/nrcardio.2013.105.
  - [207] K. Y. van Spaendonck-Zwarts *et al.*, "Genetic analysis in 418 index patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: overview of 10 years' experience," *Eur. J. Heart Fail.*, vol. 15, no. 6, pp. 628–636, 2013, doi: 10.1093/eurjhf/hft013.
  - [208] R. E. Hershberger and J. D. Siegfried, "Update 2011: Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 57, no. 16. Elsevier USA, pp. 1641–1649, Apr. 19, 2011, doi: 10.1016/j.jacc.2011.01.015.
  - [209] M. Sweet, M. R. G. Taylor, and L. Mestroni, "Diagnosis, prevalence, and screening of familial dilated cardiomyopathy.," *Expert Opin. orphan drugs*, vol. 3, no. 8, pp. 869–876, 2015, doi: 10.1517/21678707.2015.1057498.
  - [210] B. Bozkurt *et al.*, "Current Diagnostic and Treatment Strategies for Specific Dilated Cardiomyopathies: A Scientific Statement from the American Heart Association," *Circulation*, vol. 134, no. 23. Lippincott Williams and Wilkins, pp. e579–e646, Dec. 06, 2016, doi: 10.1161/CIR.0000000000000455.

- [211] W. J. McKenna, B. J. Maron, and G. Thiene, "Classification, Epidemiology, and Global Burden of Cardiomyopathies," *Circ. Res.*, vol. 121, no. 7, pp. 722–730, Sep. 2017, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309711.
- [212] J. Haas *et al.*, "Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy," *European Heart Journal*, vol. 36, no. 18. Oxford University Press, pp. 1123–1135, May 07, 2015, doi: 10.1093/eurheartj/ehu301.
- [213] F. Domínguez *et al.*, "Dilated Cardiomyopathy Due to BLC2-Associated Athanogene 3 (BAG3) Mutations," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 72, no. 20, pp. 2471–2481, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2018.08.2181.
- [214] O. Akinrinade *et al.*, "Relevance of Titin Missense and Non-Frameshifting Insertions/Deletions Variants in Dilated Cardiomyopathy," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 4093, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-39911-x.
- [215] F. Mazzarotto *et al.*, "Reevaluating the Genetic Contribution of Monogenic Dilated Cardiomyopathy," *Circulation*, vol. 141, no. 5, pp. 387–398, Feb. 2020, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.037661.
- [216] M. Pasotti *et al.*, "Long-Term Outcome and Risk Stratification in Dilated Cardiomyopathies," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 52, no. 15, pp. 1250–1260, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.jacc.2008.06.044.
- [217] I. A. W. van Rijsingen *et al.*, "Gender-specific differences in major cardiac events and mortality in lamin A/C mutation carriers," *Eur. J. Heart Fail.*, vol. 15, no. 4, pp. 376–384, 2013, doi: 10.1093/eurjhf/hfs191.
- [218] M. F. Ortiz-Genga *et al.*, "Truncating FLNC Mutations Are Associated With High-Risk Dilated and Arrhythmogenic Cardiomyopathies," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 68, no. 22, pp. 2440–2451, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.jacc.2016.09.927.
- [219] R. L. Begay *et al.*, "Filamin C Truncation Mutations Are Associated With Arrhythmogenic Dilated Cardiomyopathy and Changes in the Cell–Cell Adhesion Structures," *JACC Clin. Electrophysiol.*, vol. 4, no. 4, pp. 504–514, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.jacep.2017.12.003.
- [220] W. P. McNair *et al.*, "SCN5A mutation associated with dilated cardiomyopathy, conduction disorder, and arrhythmia," *Circulation*, vol. 110, no. 15, pp. 2163–2167, Oct. 2004, doi: 10.1161/01.CIR.0000144458.58660.BB.
- [221] M. Cerrone, C. A. Remme, R. Tadros, C. R. Bezzina, and M. Delmar, "Beyond the One Gene–One Disease Paradigm," *Circulation*, vol. 140, no. 7, pp. 595–610, Aug. 2019, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035954.
- [222] R. Roncarati *et al.*, "Doubly heterozygous LMNA and TTN mutations revealed by exome sequencing in a severe form of dilated cardiomyopathy," *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 21, no. 10, pp. 1105–1111, Oct. 2013, doi: 10.1038/ejhg.2013.16.
- [223] J. S. Ware *et al.*, "Shared genetic predisposition in Peripartum and dilated cardiomyopathies," *N. Engl. J. Med.*, vol. 374, no. 3, pp. 233–241, Jan. 2016, doi: 10.1056/NEJMoa1505517.
- [224] J. S. Ware *et al.*, "Genetic Etiology for Alcohol-Induced Cardiac Toxicity," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 71, no. 20, pp. 2293–2302, May 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2018.03.462.
- [225] P. Garcia-Pavia *et al.*, "Genetic Variants Associated With Cancer Therapy-Induced Cardiomyopathy," *Circulation*, vol. 140, no. 1, pp. 31–41, Jul. 2019, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037934.
- [226] T. J. Pugh *et al.*, "The landscape of genetic variation in dilated cardiomyopathy as surveyed by clinical DNA sequencing," *Genet. Med.*, vol. 16, no. 8, pp. 601–608, Aug. 2014, doi: 10.1038/gim.2013.204.
- [227] D. J. Tester and M. J. Ackerman, "Postmortem Long QT Syndrome Genetic Testing for Sudden Unexplained Death in the Young," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 49, no. 2, pp. 240–246, Jan. 2007, doi: 10.1016/j.jacc.2006.10.010.
- [228] M. Arnstad *et al.*, "Prevalence of long-QT syndrome gene variants in sudden infant death syndrome," *Circulation*, vol. 115, no. 3, pp. 361–367, Jan. 2007, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.658021.
- [229] N. Lahrouchi *et al.*, "Transethnic Genome-Wide Association Study Provides Insights in the Genetic Architecture and Heritability of Long QT Syndrome," *Circulation*, vol. 142, no. 4, pp. 324–338, Jul. 2020, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.045956.

- [230] M. Coll *et al.*, “Incomplete Penetrance and Variable Expressivity: Hallmarks in Channelopathies Associated with Sudden Cardiac Death,” *Biology (Basel)*, vol. 7, no. 1, Dec. 2017, doi: 10.3390/biology7010003.
- [231] J. A. Kim *et al.*, “Trigger-specific risk factors and response to therapy in long QT syndrome type 2,” *Hear. Rhythm*, vol. 7, no. 12, pp. 1797–1805, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.hrthm.2010.09.011.
- [232] I. Goldenberg *et al.*, “Trigger-specific ion-channel mechanisms, risk factors, and response to therapy in type 1 long QT syndrome,” *Hear. Rhythm*, vol. 9, no. 1, pp. 49–56, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.hrthm.2011.08.020.
- [233] D. J. Abrams and C. A. MacRae, “Long QT Syndrome,” *Circulation*, vol. 129, no. 14, pp. 1524–1529, Apr. 2014, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003985.
- [234] P. J. Schwartz *et al.*, “Prevalence of the congenital long-qt syndrome,” *Circulation*, vol. 120, no. 18, pp. 1761–1767, Nov. 2009, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.863209.
- [235] L. Tranebjaerg, J. Bathen, J. Tyson, and M. Bitner-Glindzicz, “Jervell and Lange-Nielsen syndrome: a Norwegian perspective - PubMed,” *Am. J. Med. Genet.*, vol. 89, no. 3, pp. 137–146, Sep. 1999, Accessed: Aug. 14, 2020. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10704188/>.
- [236] H. C. BAZETT, “An analysis of the time-relations of electrocardiograms,” *Ann. Noninvasive Electrocardiol.*, vol. 2, no. 2, pp. 177–194, Apr. 1997, doi: 10.1111/j.1542-474X.1997.tb00325.x.
- [237] P. J. Schwartz, A. J. Moss, G. M. Vincent, and R. S. Crampton, “Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update,” *Circulation*, vol. 88, no. 2, pp. 782–784, Aug. 1993, doi: 10.1161/01.CIR.88.2.782.
- [238] S. G. Priori, C. Napolitano, and P. J. Schwartz, “Low penetrance in the long-QT syndrome clinical impact,” *Circulation*, vol. 99, no. 4, pp. 529–533, Feb. 1999, doi: 10.1161/01.CIR.99.4.529.
- [239] J. N. Johnson and M. J. Ackerman, “QTc: How long is too long?,” *British Journal of Sports Medicine*, vol. 43, no. 9, NIH Public Access, pp. 657–662, Sep. 2009, doi: 10.1136/bjsm.2008.054734.
- [240] A. Garcia-Elias and B. Benito, “Ion Channel Disorders and Sudden Cardiac Death,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 3, Feb. 2018, doi: 10.3390/ijms19030692.
- [241] L. L. Fan *et al.*, “Exome sequencing identifies a novel nonsense mutation of Ring Finger Protein 207 in a Chinese family with Long QT syndrome and syncope,” *J. Hum. Genet.*, vol. 64, no. 3, pp. 233–238, Mar. 2019, doi: 10.1038/s10038-018-0549-1.
- [242] A. Fernández-Falgueras *et al.*, “Cardiac Channelopathies and Sudden Death: Recent Clinical and Genetic Advances,” *Biology (Basel)*, vol. 6, no. 1, Mar. 2017, doi: 10.3390/biology6010007.
- [243] S. M. Al-Khatib *et al.*, “2017 AHA/ACC/HRS guideline for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: Executive summary,” *Circulation*, vol. 138, no. 13, pp. e272–e391, Sep. 2018, doi: 10.1161/CIR.0000000000000549.
- [244] M. S. Bohnen *et al.*, *Molecular Pathophysiology of Congenital Long QT Syndrome*, vol. 97, no. 1. American Physiological Society, 2017, pp. 89–134.
- [245] M. J. Ackerman, C. A. Marcou, and D. J. Tester, “Personalized Medicine: Genetic Diagnosis for Inherited Cardiomyopathies/Channelopathies,” *Rev. Española Cardiol. (English Ed.)*, vol. 66, no. 4, pp. 298–307, Apr. 2013, doi: 10.1016/j.rec.2012.12.010.
- [246] H. M. Altmann *et al.*, “Homozygous/compound heterozygous triadin mutations associated with autosomal-recessive long-QT syndrome and pediatric sudden cardiac arrest: Elucidation of the triadin knockout syndrome,” *Circulation*, vol. 131, no. 23, pp. 2051–2060, 2015, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015397.
- [247] C. Erxleben *et al.*, “Cyclosporin and Timothy syndrome increase mode 2 gating of CaV1.2 calcium channels through aberrant phosphorylation of S6 helices,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 103, no. 10, pp. 3932–3937, Mar. 2006, doi: 10.1073/pnas.0511322103.
- [248] P. J. Schwartz *et al.*, “Genotype-Phenotype Correlation in the Long-QT Syndrome,” *Circulation*, vol. 103, no. 1, pp. 89–95, Jan. 2001, doi: 10.1161/01.CIR.103.1.89.



- [249] W. P, S. I, T. KW, K. MT, and S. MC, "Compound Mutations: A Common Cause of Severe long-QT Syndrome," *Circulation*, vol. 109, no. 15, 2004, doi: 10.1161/01.CIR.0000125524.34234.13.
- [250] H. Itoh *et al.*, "Long QT syndrome with compound mutations is associated with a more severe phenotype: a Japanese multicenter study.," *Hear. Rhythm*, vol. 7, no. 10, pp. 1411–8, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.hrthm.2010.06.013.
- [251] A. A. M. Wilde and C. R. Bezzina, "Genetics of cardiac arrhythmias," *Heart*, vol. 91, no. 10. BMJ Publishing Group, pp. 1352–1358, Oct. 2005, doi: 10.1136/hrt.2004.046334.
- [252] F. Gaita *et al.*, "Short QT Syndrome," *Circulation*, vol. 108, no. 8, pp. 965–970, Aug. 2003, doi: 10.1161/01.CIR.0000085071.28695.C4.
- [253] A. Mazzanti *et al.*, "Novel insight into the natural history of short QT syndrome," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 63, no. 13, pp. 1300–1308, Apr. 2014, doi: 10.1016/j.jacc.2013.09.078.
- [254] L. S. Raschitz *et al.*, "Differences in Short QT Syndrome Subtypes: A Systematic Literature Review and Pooled Analysis," *Frontiers in Genetics*, vol. 10. Frontiers Media S.A., p. 1, Jan. 17, 2020, doi: 10.3389/fgene.2019.01312.
- [255] O. Campuzano, G. Sarquella-Brugada, S. Cesar, E. Arbelo, J. Brugada, and R. Brugada, "Recent Advances in Short QT Syndrome.," *Front. Cardiovasc. Med.*, vol. 5, p. 149, Oct. 2018, doi: 10.3389/fcvm.2018.00149.
- [256] O. Campuzano *et al.*, "Short QT Syndrome: A Comprehensive Genetic Interpretation and Clinical Translation of Rare Variants," *J. Clin. Med.*, vol. 8, no. 7, p. 1035, Jul. 2019, doi: 10.3390/jcm8071035.
- [257] C. Antzelevitch *et al.*, "Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death," *Circulation*, vol. 115, no. 4, pp. 442–449, Jan. 2007, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.668392.
- [258] C. Templin *et al.*, "Identification of a novel loss-of-function calcium channel gene mutation in short QT syndrome (SQTS6)," *Eur. Heart J.*, vol. 32, no. 9, pp. 1077–1088, May 2011, doi: 10.1093/eurheartj/ehr076.
- [259] K. Hong, J. Hu, J. Yu, and R. Brugada, "Concomitant Brugada-like and short QT electrocardiogram linked to SCN5A mutation," *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 20, no. 11, pp. 1189–1192, Nov. 2012, doi: 10.1038/ejhg.2012.63.
- [260] K. Thorsen *et al.*, "Loss-of-activity-mutation in the cardiac chloride-bicarbonate exchanger AE3 causes short QT syndrome," *Nat. Commun.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–10, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41467-017-01630-0.
- [261] P. Brugada and J. Brugada, "Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report.," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 20, no. 6, pp. 1391–6, Nov. 1992, doi: 10.1016/0735-1097(92)90253-j.
- [262] T. Miyazaki, H. Mitamura, S. Miyoshi, K. Soejima, Y. Aizawa, and S. Ogawa, "Autonomic and antiarrhythmic drug modulation of ST segment elevation in patients with Brugada syndrome," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 27, no. 5, pp. 1061–1070, Apr. 1996, doi: 10.1016/0735-1097(95)00613-3.
- [263] A. Bayés de Luna *et al.*, "Current electrocardiographic criteria for diagnosis of Brugada pattern: a consensus report," *J. Electrocardiol.*, vol. 45, no. 5, pp. 433–442, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.jelectrocard.2012.06.004.
- [264] R. Coronel *et al.*, "Right Ventricular Fibrosis and Conduction Delay in a Patient With Clinical Signs of Brugada Syndrome," *Circulation*, vol. 112, no. 18, pp. 2769–2777, Nov. 2005, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.532614.
- [265] A. Frustaci *et al.*, "Cardiac Histological Substrate in Patients With Clinical Phenotype of Brugada Syndrome," *Circulation*, vol. 112, no. 24, pp. 3680–3687, Dec. 2005, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.520999.
- [266] A. Frustaci, M. A. Russo, and C. Chimenti, "Structural myocardial abnormalities in asymptomatic family members with Brugada syndrome and SCN5A gene mutation," *Eur. Heart J.*, vol. 30, no. 14, pp. 11763–11763, Jul. 2009, doi: 10.1093/eurheartj/ehp148.

- [267] O. Catalano *et al.*, “Magnetic resonance investigations in Brugada syndrome reveal unexpectedly high rate of structural abnormalities,” *Eur. Heart J.*, vol. 30, no. 18, pp. 2241–2248, Sep. 2009, doi: 10.1093/eurheartj/ehp252.
- [268] P. S. Chen and S. G. Priori, “The Brugada Syndrome\*\*Editorials published in the Journal of the American College of Cardiology reflect the views of the authors and do not necessarily represent the views of JACC or the American College of Cardiology.,” *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 51, no. 12, pp. 1176–1180, Mar. 25, 2008, doi: 10.1016/j.jacc.2007.12.006.
- [269] J. Brugada, O. Campuzano, E. Arbelo, G. Sarquella-Brugada, and R. Brugada, “Present Status of Brugada Syndrome: JACC State-of-the-Art Review,” *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 72, no. 9, Elsevier USA, pp. 1046–1059, Aug. 28, 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2018.06.037.
- [270] X.-Q. Quan, S. Li, R. Liu, K. Zheng, X.-F. Wu, and Q. Tang, “A meta-analytic review of prevalence for Brugada ECG patterns and the risk for death,” *Medicine (Baltimore)*, vol. 95, no. 50, p. e5643, Dec. 2016, doi: 10.1097/MD.0000000000005643.
- [271] K. Nademanee, “Sudden unexplained death syndrome in Southeast Asia,” in *American Journal of Cardiology*, Mar. 1997, vol. 79, no. 6 A, pp. 10–11, doi: 10.1016/S0002-9149(97)00113-6.
- [272] M. Papadakis *et al.*, “The Diagnostic Yield of Brugada Syndrome After Sudden Death With Normal Autopsy,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 71, no. 11, pp. 1204–1214, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2018.01.031.
- [273] M. Vatta *et al.*, “Genetic and biophysical basis of sudden unexplained nocturnal death syndrome (SUNDS), a disease allelic to Brugada syndrome,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 11, no. 3, pp. 337–345, Feb. 2002, doi: 10.1093/hmg/11.3.337.
- [274] R. Casado-Arroyo *et al.*, “Long-Term Trends in Newly Diagnosed Brugada Syndrome: Implications for Risk Stratification,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 68, no. 6, pp. 614–623, Aug. 2016, doi: 10.1016/J.JACC.2016.05.073.
- [275] M. Abdelsayed, C. H. Peters, and P. C. Ruben, “Differential thermosensitivity in mixed syndrome cardiac sodium channel mutants,” *J. Physiol.*, vol. 593, no. 18, pp. 4201–4223, Sep. 2015, doi: 10.1113/JP270139.
- [276] S. Sicouri and C. Antzelevitch, “Mechanisms Underlying the Actions of Antidepressant and Antipsychotic Drugs That Cause Sudden Cardiac Arrest,” *Arrhythmia Electrophysiol. Rev.*, vol. 7, no. 3, p. 199, Aug. 2018, doi: 10.15420/aer.2018.29.2.
- [277] R. Dumaine *et al.*, “Ionic mechanisms responsible for the electrocardiographic phenotype of the Brugada syndrome are temperature dependent,” *Circ. Res.*, vol. 85, no. 9, pp. 803–809, Oct. 1999, doi: 10.1161/01.RES.85.9.803.
- [278] A. Baranchuk *et al.*, “Brugada phenocopy: New terminology and proposed classification,” *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, vol. 17, no. 4, Blackwell Publishing Inc., pp. 299–314, 2012, doi: 10.1111/j.1542-474X.2012.00525.x.
- [279] P. MEREGALLI, A. WILDE, and H. TAN, “Pathophysiological mechanisms of Brugada syndrome: Depolarization disorder, repolarization disorder, or more?,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 67, no. 3, pp. 367–378, Aug. 2005, doi: 10.1016/j.cardiores.2005.03.005.
- [280] J. P. David *et al.*, “Deletion in mice of X-linked, Brugada syndrome- And atrial fibrillation-associated Kcne5 augments ventricular KV currents and predisposes to ventricular arrhythmia,” *FASEB J.*, vol. 33, no. 2, pp. 2537–2552, 2019, doi: 10.1096/fj.201800502R.
- [281] A. Janin, F. Bessière, T. Georgescu, V. Chanavat, P. Chevalier, and G. Millat, “TRPM4 mutations to cause autosomal recessive and not autosomal dominant Brugada type 1 syndrome,” *Eur. J. Med. Genet.*, vol. 62, no. 6, 2019, doi: 10.1016/j.ejmg.2018.08.008.
- [282] J. D. Kapplinger *et al.*, “An international compendium of mutations in the SCN5A-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing,” *Heart Rhythm*, vol. 7, no. 1, 2010, doi: 10.1016/j.hrthm.2009.09.069.
- [283] L. Crotti *et al.*, “Spectrum and Prevalence of Mutations Involving BrS1- Through BrS12-Susceptibility Genes in a Cohort of Unrelated Patients Referred for Brugada Syndrome Genetic Testing,” *J. Am. Coll.*

- Cardiol.*, vol. 60, no. 15, pp. 1410–1418, Oct. 2012, doi: 10.1016/j.jacc.2012.04.037.
- [284] C. R. Bezzina *et al.*, “Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death,” *Nat. Genet.*, vol. 45, no. 9, pp. 1044–1049, Sep. 2013, doi: 10.1038/ng.2712.
  - [285] M. Nader *et al.*, “Tail-anchored membrane protein SLMAP is a novel regulator of cardiac function at the sarcoplasmic reticulum,” *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol. 302, no. 5, pp. H1138–45, Mar. 2012, doi: 10.1152/ajpheart.00872.2011.
  - [286] O. Campuzano *et al.*, “Genetic interpretation and clinical translation of minor genes related to Brugada syndrome,” *Hum. Mutat.*, vol. 40, no. 6, pp. 749–764, Jun. 2019, doi: 10.1002/humu.23730.
  - [287] L. Huang *et al.*, “Molecular pathological study on LRRC10 in sudden unexplained nocturnal death syndrome in the Chinese Han population,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 131, no. 3, pp. 621–628, May 2017, doi: 10.1007/s00414-016-1516-z.
  - [288] S. M. Hosseini *et al.*, “Reappraisal of Reported Genes for Sudden Arrhythmic Death,” *Circulation*, vol. 138, no. 12, pp. 1195–1205, Sep. 2018, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035070.
  - [289] M. M. Monasky, E. Micaglio, G. Ciconte, and C. Pappone, *Brugada Syndrome: Oligogenic or Mendelian Disease?*, vol. 21, no. 5. 2020, p. 1687.
  - [290] C. Pappone, M. Monasky, and G. Ciconte, “Epicardial ablation in genetic cardiomyopathies: A new frontier,” *Eur. Hear. Journal, Suppl.*, vol. 21, no. Supplement\_B, pp. B61–B66, Mar. 2019, doi: 10.1093/eurheartj/suz028.
  - [291] A. A. M. Wilde and A. S. Amin, “Clinical Spectrum of SCN5A Mutations,” *JACC Clin. Electrophysiol.*, vol. 4, no. 5, pp. 569–579, May 2018, doi: 10.1016/j.jacep.2018.03.006.
  - [292] J.-B. Gourraud *et al.*, “The Brugada Syndrome: A Rare Arrhythmia Disorder with Complex Inheritance,” *Front. Cardiovasc. Med.*, vol. 3, p. 9, 2016, doi: 10.3389/fcvm.2016.00009.
  - [293] S. G. Priori *et al.*, “Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia,” *Circulation*, vol. 106, no. 1, pp. 69–74, Jul. 2002, doi: 10.1161/01.CIR.0000020013.73106.D8.
  - [294] C. Napolitano, R. Bloise, M. Memmi, and S. G. Priori, “Clinical utility gene card for: Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT),” *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 22, no. 1, 2014, doi: 10.1038/ejhg.2013.55.
  - [295] N. Liu, Y. Ruan, and S. G. Priori, “Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia,” *Prog. Cardiovasc. Dis.*, vol. 51, no. 1, 2008, doi: 10.1016/j.pcad.2007.10.005.
  - [296] D. J. Tester, A. Medeiros-Domingo, M. L. Will, C. M. Haglund, and M. J. Ackerman, “Cardiac Channel Molecular Autopsy: Insights From 173 Consecutive Cases of Autopsy-Negative Sudden Unexplained Death Referred for Postmortem Genetic Testing,” *Mayo Clin. Proc.*, vol. 87, no. 6, pp. 524–539, Jun. 2012, doi: 10.1016/j.mayocp.2012.02.017.
  - [297] N. Liu *et al.*, “Arrhythmogenesis in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: Insights from a RyR2 R4496C knock-in mouse model,” *Circ. Res.*, vol. 99, no. 3, pp. 292–298, Aug. 2006, doi: 10.1161/01.RES.0000235869.50747.e1.
  - [298] B. C. Knollmann *et al.*, “Casq2 deletion causes sarcoplasmic reticulum volume increase, premature Ca<sup>2+</sup> release, and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia,” *J. Clin. Invest.*, vol. 116, no. 9, pp. 2510–2520, Sep. 2006, doi: 10.1172/JCI29128.
  - [299] B. C. Willis *et al.*, “Constitutive intracellular Na<sup>+</sup> excess in purkinje cells promotes arrhythmogenesis at lower levels of stress than ventricular myocytes from mice with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia,” *Circulation*, vol. 133, no. 24, pp. 2348–2359, Jun. 2016, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021936.
  - [300] T. M. Roston *et al.*, “The clinical and genetic spectrum of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: Findings from an international multicentre registry,” *Europace*, vol. 20, no. 3, pp. 541–547, Mar. 2018, doi: 10.1093/europace/euw389.
  - [301] S. G. Priori *et al.*, “Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (hRyR2) underlie catecholaminergic

- polymorphic ventricular tachycardia,” *Circulation*, vol. 103, no. 2, pp. 196–200, Jan. 2001, doi: 10.1161/01.CIR.103.2.196.
- [302] A. Medeiros-Domingo *et al.*, “The RYR2-Encoded Ryanodine Receptor/Calcium Release Channel in Patients Diagnosed Previously With Either Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia or Genotype Negative, Exercise-Induced Long QT Syndrome. A Comprehensive Open Reading Frame Mutational Analysis,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 54, no. 22, 2009, doi: 10.1016/j.jacc.2009.08.022.
- [303] D. Olubando *et al.*, “Classification and correlation of RYR2 missense variants in individuals with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia reveals phenotypic relationships,” *J. Hum. Genet.*, vol. 65, no. 6, pp. 531–539, Jun. 2020, doi: 10.1038/s10038-020-0738-6.
- [304] J. D. Kapplinger *et al.*, “Yield of the RYR2 Genetic Test in Suspected Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia and Implications for Test Interpretation,” *Circ. Genomic Precis. Med.*, vol. 11, no. 2, p. e001424, Feb. 2018, doi: 10.1161/CIRCGEN.116.001424.
- [305] A. V. Postma *et al.*, “Absence of calsequestrin 2 causes severe forms of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia,” *Circ. Res.*, vol. 91, no. 8, 2002, doi: 10.1161/01.res.0000038886.18992.6b.
- [306] M. J. Wleklinski, P. J. Kannankeril, and B. C. Knollmann, “Molecular and tissue mechanisms of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia,” *J. Physiol.*, p. JP276757, Mar. 2020, doi: 10.1113/JP276757.
- [307] B. Gray *et al.*, “A novel heterozygous mutation in cardiac calsequestrin causes autosomal dominant catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia,” *Heart Rhythm*, vol. 13, no. 8, pp. 1652–1660, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.hrthm.2016.05.004.
- [308] N. Chopra *et al.*, “Ablation of triadin causes loss of cardiac Ca<sup>2+</sup> release units, impaired excitation-contraction coupling, and cardiac arrhythmias,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 18, pp. 7636–7641, May 2009, doi: 10.1073/pnas.0902919106.
- [309] N. Roux-buisson *et al.*, “Absence of triadin, a protein of the calcium release complex, is responsible for cardiac arrhythmia with sudden death in human,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 21, no. 12, pp. 2759–2767, Jun. 2012, doi: 10.1093/hmg/dds104.
- [310] M. Nyegaard *et al.*, “Mutations in calmodulin cause ventricular tachycardia and sudden cardiac death,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 91, no. 4, pp. 703–712, Oct. 2012, doi: 10.1016/j.ajhg.2012.08.015.
- [311] N. Makita *et al.*, “Novel calmodulin mutations associated with congenital arrhythmia susceptibility,” *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 7, no. 4, pp. 466–474, Aug. 2014, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000459.
- [312] N. Gomez-Hurtado *et al.*, “Novel CPVT-Associated Calmodulin Mutation in CALM3 (CALM3-A103V) Activates Arrhythmogenic Ca Waves and Sparks,” *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.*, vol. 9, no. 8, Aug. 2016, doi: 10.1161/CIRCEP.116.004161.
- [313] S. I. Da’as *et al.*, “Arrhythmogenic calmodulin E105A mutation alters cardiac RyR2 regulation leading to cardiac dysfunction in zebrafish,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1448, no. 1, pp. 19–29, Jul. 2019, doi: 10.1111/nyas.14033.
- [314] L. Crotti *et al.*, “Calmodulin mutations and life-threatening cardiac arrhythmias: insights from the International Calmodulinopathy Registry,” *Eur. Heart J.*, vol. 40, no. 35, pp. 2964–2975, Sep. 2019, doi: 10.1093/eurheartj/ehz311.
- [315] H. D. Devalla *et al.*, “TECRL, a new life-threatening inherited arrhythmia gene associated with overlapping clinical features of both LQTS and CPVT,” *EMBO Mol. Med.*, vol. 8, no. 12, pp. 1390–1408, Dec. 2016, doi: 10.15252/emmm.201505719.
- [316] A. Moscu-Gregor *et al.*, “Novel variants in TECRL cause recessive inherited CPVT type 3 with severe and variable clinical symptoms,” *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 31, no. 6, pp. 1527–1535, Jun. 2020, doi: 10.1111/jce.14446.
- [317] P. J. Mohler *et al.*, “Defining the cellular phenotype of ‘ankyrin-B syndrome’ variants: Human ANK2 variants associated with clinical phenotypes display a spectrum of activities in cardiomyocytes,” *Circulation*, vol. 115, no. 4, pp. 432–441, 2007, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.656512.
- [318] C. Van Der Werf and A. A. M. Wilde, “Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: From



- bench to bedside,” *Heart*, vol. 99, no. 7, pp. 497–504, Apr. 2013, doi: 10.1136/heartjnl-2012-302033.
- [319] S. Singh *et al.*, “Efficacy and Safety of Oral Dofetilide in Converting to and Maintaining Sinus Rhythm in Patients With Chronic Atrial Fibrillation or Atrial Flutter,” *Circulation*, vol. 102, no. 19, pp. 2385–2390, Nov. 2000, doi: 10.1161/01.CIR.102.19.2385.
- [320] D. M. RODEN, *Long QT syndrome: reduced repolarization reserve and the genetic link*, vol. 259, no. 1. Blackwell Science Ltd, 2006, pp. 59–69.
- [321] B. Danielsson *et al.*, “Drug use and torsades de pointes cardiac arrhythmias in Sweden: a nationwide register-based cohort study,” *BMJ Open*, vol. 10, no. 3, Mar. 2020, doi: 10.1136/bmjopen-2019-034560.
- [322] C. E. Leonard, “Antipsychotics and the Risks of Sudden Cardiac Death and All-Cause Death: Cohort Studies in Medicaid and Dually Eligible Medicaid-Medicare Beneficiaries of Five States,” *J. Clin. Exp. Cardiol.*, vol. 01, no. S10, 2012, doi: 10.4172/2155-9880.S10-006.
- [323] I. Palanca-Maresca *et al.*, “Prevalence and Risk Factors of Prolonged Corrected QT Interval Among Children and Adolescents Treated With Antipsychotic Medications,” *J. Clin. Psychopharmacol.*, vol. 37, no. 1, pp. 78–83, Feb. 2017, doi: 10.1097/JCP.0000000000000639.
- [324] R. Tadros *et al.*, “Predicting cardiac electrical response to sodium-channel blockade and Brugada syndrome using polygenic risk scores,” *Eur. Heart J.*, vol. 40, no. 37, pp. 3097–3107, Oct. 2019, doi: 10.1093/eurheartj/ehz435.
- [325] L. M. Hondeghem, “QT prolongation is an unreliable predictor of ventricular arrhythmia,” *Heart Rhythm*, vol. 5, no. 8, pp. 1210–1212, Aug. 2008, doi: 10.1016/j.hrthm.2008.05.006.
- [326] B. PALTOO, S. O’DONOGHUE, and M. S. MOUSAVI, “Levofloxacin Induced Polymorphic Ventricular Tachycardia with Normal QT Interval,” *Pacing Clin. Electrophysiol.*, vol. 24, no. 5, pp. 895–897, May 2001, doi: 10.1046/j.1460-9592.2001.00895.x.
- [327] H. Food and Drug Administration, “International Conference on Harmonisation: guidance on E14 Clinical Evaluation of QT/QTc Interval Prolongation and Proarrhythmic Potential for Non-Antiarrhythmic Drugs; availability. Notice,” *Fed. Regist.*, vol. 70, no. 202, pp. 61134–5, Oct. 2005, Accessed: Feb. 14, 2019. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16237860>.
- [328] R. R. Shah, “Drug-induced prolongation of the QT interval: regulatory dilemmas and implications for approval and labelling of a new chemical entity,” *Fundam. Clin. Pharmacol.*, vol. 16, no. 2, pp. 147–156, Apr. 2002, doi: 10.1046/j.1472-8206.2002.00083.x.
- [329] R. R. Shah and P. D. Stonier, “Withdrawal of prenylamine: perspectives on pharmacological, clinical and regulatory outcomes following the first QT-related casualty,” *Ther. Adv. drug Saf.*, vol. 9, no. 8, pp. 475–493, Aug. 2018, doi: 10.1177/2042098618780854.
- [330] S. G. Priori *et al.*, “Risk Stratification in the Long-QT Syndrome,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 348, no. 19, pp. 1866–1874, May 2003, doi: 10.1056/NEJMoa022147.
- [331] W. D. and R. K. Woosley RL, Heise CW, Gallo T, Tate J, “www.CredibleMeds.org.” <https://crediblemeds.org/> (accessed Aug. 31, 2018).
- [332] R. L. Woosley *et al.*, “Adverse Drug Event Causality Analysis (ADECA): A Process for Evaluating Evidence and Assigning Drugs to Risk Categories for Sudden Death,” *Drug Saf.*, vol. 40, no. 6, pp. 465–474, Jun. 2017, doi: 10.1007/s40264-017-0519-0.
- [333] Y. G. Yap, E. R. Behr, and A. J. Camm, “Drug-induced Brugada syndrome,” *Europace*, vol. 11, no. 8, pp. 989–994, Aug. 2009, doi: 10.1093/europace/eup114.
- [334] W. Shimizu, “Acquired forms of the Brugada syndrome,” in *Journal of Electrocardiology*, Oct. 2005, vol. 38, no. 4 SUPPL., pp. 22–25, doi: 10.1016/j.jelectrocard.2005.06.005.
- [335] F. De Ponti, E. Poluzzi, and N. Montanaro, “QT-interval prolongation by non-cardiac drugs: Lessons to be learned from recent experience,” *European Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 56, no. 1. Springer Verlag, pp. 1–18, 2000, doi: 10.1007/s002280050714.
- [336] Y. G. Yap and J. Camm, “Risk of torsades de pointes with non-cardiac drugs,” *British Medical Journal*, vol. 320, no. 7243. BMJ Publishing Group, pp. 1158–1159, Apr. 29, 2000, doi: 10.1136/bmj.320.7243.1158.

- [337] W. Haverkamp *et al.*, “The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: Clinical and regulatory implications: Report on a Policy Conference of the European Society of Cardiology,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 47, no. 2, pp. 219–233, Aug. 2000, doi: 10.1016/S0008-6363(00)00119-X.
- [338] Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, “Utilización de medicamentos antidepresivos en España durante el periodo 2000-2013,” 2015. <https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/observatorio/docs/antidepresivos-2000-2013.pdf> (accessed Sep. 13, 2020).
- [339] W. V. R. Vieweg *et al.*, “Risperidone, QTc interval prolongation, and torsade de pointes: A systematic review of case reports,” *Psychopharmacology*, vol. 228, no. 4. Psychopharmacology (Berl), pp. 515–524, Aug. 2013, doi: 10.1007/s00213-013-3192-8.
- [340] B. Danielsson, J. Collin, G. Jonasdottir Bergman, N. Borg, P. Salmi, and J. Fastbom, “Antidepressants and antipsychotics classified with torsades de pointes arrhythmia risk and mortality in older adults - a Swedish nationwide study,” *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 81, no. 4, pp. 773–783, Apr. 2016, doi: 10.1111/bcp.12829.
- [341] D. Goldgran-Toledano, G. Sideris, and J. P. Kevorkian, “Overdose of cyclic antidepressants and the Brugada syndrome [6],” *New England Journal of Medicine*, vol. 346, no. 20. N Engl J Med, pp. 1591–1592, May 16, 2002, doi: 10.1056/NEJM200205163462020.
- [342] K. A. Funk and J. R. Bostwick, “A Comparison of the Risk of QT Prolongation Among SSRIs,” *Ann. Pharmacother.*, vol. 47, no. 10, pp. 1330–1341, Oct. 2013, doi: 10.1177/1060028013501994.
- [343] C. Polcwiartek, K. Kragholm, O. Schjerning, C. Graff, and J. Nielsen, “Cardiovascular safety of antipsychotics: A clinical overview,” *Expert Opinion on Drug Safety*, vol. 15, no. 5. Taylor and Francis Ltd, pp. 679–688, May 03, 2016, doi: 10.1517/14740338.2016.1161021.
- [344] E. Raschi *et al.*, “Torsadogenic risk of antipsychotics: Combining adverse event reports with drug utilization data across Europe,” *PLoS One*, vol. 8, no. 11, Nov. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0081208.
- [345] O. -P Mehtonen, K. Aranko, L. Mälkonen, and H. Vapaatalo, “A survey of sudden death associated with the use of antipsychotic or antidepressant drugs: 49 cases in Finland,” *Acta Psychiatr. Scand.*, vol. 84, no. 1, pp. 58–64, Jul. 1991, doi: 10.1111/j.1600-0447.1991.tb01421.x.
- [346] N. M. Jasiak and J. R. Bostwick, “Risk of QT/QTc Prolongation Among Newer Non-SSRI Antidepressants,” *Ann. Pharmacother.*, vol. 48, no. 12, pp. 1620–1628, Dec. 2014, doi: 10.1177/1060028014550645.
- [347] W. A. Ray, C. P. Chung, K. T. Murray, K. Hall, and C. M. Stein, “Atypical Antipsychotic Drugs and the Risk of Sudden Cardiac Death,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 360, no. 3, pp. 225–235, Jan. 2009, doi: 10.1056/NEJMoa0806994.
- [348] R. H. Chou *et al.*, “Antipsychotic treatment is associated with risk of atrial fibrillation: A nationwide nested case-control study,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 227, pp. 134–140, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.185.
- [349] Y. Ozeki *et al.*, “QTc prolongation and antipsychotic medications in a sample of 1017 patients with schizophrenia,” *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry*, vol. 34, no. 2, pp. 401–405, Mar. 2010, doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.01.008.
- [350] N. J. Lubna *et al.*, “Amitriptyline May Have Possibility to Induce Brugada Syndrome Rather than Long QT Syndrome,” *Cardiovasc. Toxicol.*, vol. 18, no. 1, pp. 91–98, Feb. 2018, doi: 10.1007/s12012-017-9417-z.
- [351] R. Liperoti *et al.*, “Conventional and Atypical Antipsychotics and the Risk of Hospitalization for Ventricular Arrhythmias or Cardiac Arrest,” *Arch. Intern. Med.*, vol. 165, no. 6, p. 696, Mar. 2005, doi: 10.1001/archinte.165.6.696.
- [352] F. Rouleau *et al.*, “Transient ST segment elevation in right precordial leads induced by psychotropic drugs: Relationship to the Brugada syndrome,” *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 12, no. 1, pp. 61–65, 2001, doi: 10.1046/j.1540-8167.2001.00061.x.
- [353] D. Darbar, T. Yang, K. Churchwell, A. A. M. Wilde, and D. M. Roden, “Unmasking of Brugada syndrome by lithium,” *Circulation*, vol. 112, no. 11, pp. 1527–1531, Sep. 2005, doi:



- 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.548487.
- [354] B. Bigwood, D. Galler, N. Amir, and W. Smith, "Brugada syndrome following tricyclic antidepressant overdose," *Anaesth. Intensive Care*, vol. 33, no. 2, pp. 266–270, Jan. 2005, doi: 10.1177/0310057x0503300219.
  - [355] M. Konigstein *et al.*, "Drug-induced Brugada syndrome: Clinical characteristics and risk factors," *Hear. Rhythm*, vol. 13, no. 5, pp. 1083–1087, May 2016, doi: 10.1016/j.hrthm.2016.03.016.
  - [356] B. Das, V. S. Rawat, S. K. Ramasubbu, and B. Kumar, "Frequency, characteristics and nature of risk factors associated with use of QT interval prolonging medications and related drug-drug interactions in a cohort of psychiatry patients," *Therapie*, vol. 74, no. 6, pp. 599–609, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.therap.2019.03.008.
  - [357] G. Frommeyer *et al.*, "Additive Proarrhythmic Effect of Combined Treatment with QT-Prolonging Agents," *Cardiovasc. Toxicol.*, vol. 18, no. 1, pp. 84–90, Feb. 2018, doi: 10.1007/s12012-017-9416-0.
  - [358] M. Sala *et al.*, "QT interval prolongation related to psychoactive drug treatment: A comparison of monotherapy versus polytherapy," *Ann. Gen. Psychiatry*, vol. 4, no. 1, p. 1, Jan. 2005, doi: 10.1186/1744-859X-4-1.
  - [359] B. Wiśniowska, Z. Tylutki, G. Wyszogrodzka, and S. Polak, "Drug-drug interactions and QT prolongation as a commonly assessed cardiac effect - comprehensive overview of clinical trials," *BMC Pharmacol. Toxicol.*, vol. 17, no. 1, pp. 1–15, Mar. 2016, doi: 10.1186/s40360-016-0053-1.
  - [360] A. L. Coughtrie *et al.*, *Drugs and life-threatening ventricular arrhythmia risk: results from the DARE study cohort*, vol. 7, no. 10. BMJ Publishing Group, 2017, p. e016627.
  - [361] Ich, "ICH Topic E15 Definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories Step 4 NOTE FOR GUIDANCE ON DEFINITIONS FOR GENOMIC BIOMARKERS, PHARMACOGENOMICS, PHARMACOGENETICS, GENOMIC DATA AND SAMPLE CODING CATEGORIES," 2007. Accessed: Sep. 20, 2020. [Online]. Available: <http://www.emea.europa.eu>.
  - [362] M. N. Niemeijer, M. E. van den Berg, M. Eijgelsheim, P. R. Rijnbeek, and B. H. Stricker, "Pharmacogenetics of Drug-Induced QT Interval Prolongation: An Update," *Drug Saf*, vol. 38, no. 10, pp. 855–867, Oct. 2015, doi: 10.1007/s40264-015-0316-6.
  - [363] C. C. Veerman *et al.*, "Slow Delayed Rectifier Potassium Current Blockade Contributes Importantly to Drug-Induced Long QT Syndrome," *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.*, vol. 6, no. 5, pp. 1002–1009, Oct. 2013, doi: 10.1161/CIRCEP.113.000239.
  - [364] L. X. Cubeddu, "Drug-induced inhibition and trafficking disruption of ion channels: pathogenesis of QT abnormalities and drug-induced fatal arrhythmias," *Curr. Cardiol. Rev.*, vol. 12, no. 2, pp. 141–154, Mar. 2016, doi: 10.2174/1573403x12666160301120217.
  - [365] R. R. Fenichel *et al.*, "Drug-induced torsades de pointes and implications for drug development," *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, vol. 15, no. 4. Blackwell Publishing Inc., pp. 475–495, 2004, doi: 10.1046/j.1540-8167.2004.03534.x.
  - [366] J. I. Vandenberg, M. D. Perry, M. J. Perrin, S. A. Mann, Y. Ke, and A. P. Hill, "hERG K(+) channels: structure, function, and clinical significance," *Physiological reviews*, vol. 92, no. 3, pp. 1393–1478, 2012, doi: 10.1152/physrev.00036.2011.
  - [367] S. Rajamani *et al.*, "Drug-induced long QT syndrome: hERG K + channel block and disruption of protein trafficking by fluoxetine and norfluoxetine," *Br. J. Pharmacol.*, vol. 149, no. 5, pp. 481–489, Nov. 2006, doi: 10.1038/sj.bjp.0706892.
  - [368] W. J. Crumb *et al.*, "Effects of antipsychotic drugs on Ito, INa, I<sub>ss</sub>, IK1, and hERG: QT prolongation, structure activity relationship, and network analysis," *Pharm. Res.*, vol. 23, no. 6, pp. 1133–1143, Jun. 2006, doi: 10.1007/s11095-006-0070-7.
  - [369] W. S. Redfern *et al.*, "Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: Evidence for a provisional safety margin in drug development," *Cardiovascular Research*, vol. 58, no. 1. Elsevier, pp. 32–45, May 01, 2003, doi: 10.1016/S0008-6363(02)00846-5.

- [370] J. S. Silvestre, M. F. O'Neill, and J. R. Prous, "Evidence for a crucial modulating role of the sodium channel in the QTc prolongation related to antipsychotics," *J. Psychopharmacol.*, vol. 28, no. 4, pp. 330–340, Apr. 2014, doi: 10.1177/0269881113515064.
- [371] H. Itoh *et al.*, "The genetics underlying acquired long QT syndrome: impact for genetic screening," *Eur. Heart J.*, vol. 37, no. 18, pp. 1456–1464, May 2016, doi: 10.1093/eurheartj/ehv695.
- [372] M. Horie *et al.*, "Latent genetic backgrounds and molecular pathogenesis in drug-induced long-QT syndrome," *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.*, vol. 2, no. 5, pp. 511–523, Oct. 2009, doi: 10.1161/CIRCEP.109.862649.
- [373] S. Kääb, M. Hinterseer, M. Näbauer, and G. Steinbeck, "Sotalol testing unmasks altered repolarization in patients with suspected acquired long-QT-syndrome - A case-control pilot study using i.v. sotalol," *Eur. Heart J.*, vol. 24, no. 7, pp. 649–657, Apr. 2003, doi: 10.1016/S0195-668X(02)00806-0.
- [374] C. Napolitano *et al.*, "Evidence for a cardiac ion channel mutation underlying drug-induced QT prolongation and life-threatening arrhythmias," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 11, no. 6, pp. 691–696, 2000, doi: 10.1111/j.1540-8167.2000.tb00033.x.
- [375] D. G. Strauss *et al.*, "A Common Genetic Variant Risk Score is Associated with Drug-Induced QT Prolongation and Torsade de Pointes Risk: A Pilot Study," *Circulation*, p. CIRCULATIONAHA.116.023980, Feb. 2017, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023980.
- [376] P. J. Kannankeril, D. M. Roden, K. J. Norris, S. P. Whalen, A. L. George, and K. T. Murray, "Genetic susceptibility to acquired long QT syndrome: Pharmacologic challenge in first-degree relatives," *Hear. Rhythm*, vol. 2, no. 2, pp. 134–140, Feb. 2005, doi: 10.1016/j.hrthm.2004.10.039.
- [377] S. Mahida, A. J. Hogarth, C. Cowan, M. H. Tayebjee, L. N. Graham, and C. B. Pepper, "Genetics of congenital and drug-induced long QT syndromes: current evidence and future research perspectives," *J Interv Card Electrophysiol*, vol. 37, no. 1, pp. 9–19, Jun. 2013, doi: 10.1007/s10840-013-9779-5.
- [378] P. Kannankeril, D. M. Roden, and D. Darbar, *Drug-induced long QT syndrome*, vol. 62, no. 4. Pharmacol Rev, 2010, pp. 760–781.
- [379] A. H. Ramirez *et al.*, "Novel rare variants in congenital cardiac arrhythmia genes are frequent in drug-induced torsades de pointes," *Pharmacogenomics J.*, vol. 13, no. 4, pp. 325–329, Aug. 2013, doi: 10.1038/tpj.2012.14.
- [380] P. Yang *et al.*, "Allelic variants in long-QT disease genes in patients with drug-associated torsades de pointes," *Circulation*, vol. 105, no. 16, pp. 1943–1948, Apr. 2002, doi: 10.1161/01.CIR.0000014448.19052.4C.
- [381] A. D. C. Paulussen *et al.*, "Genetic variations of KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, and KCNE2 in drug-induced long QT syndrome patients," *J. Mol. Med.*, vol. 82, no. 3, pp. 182–188, Mar. 2004, doi: 10.1007/s00109-003-0522-z.
- [382] Y. Nishio *et al.*, "D85N, a KCNE1 Polymorphism, Is a Disease-Causing Gene Variant in Long QT Syndrome," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 54, no. 9, pp. 812–819, Aug. 2009, doi: 10.1016/j.jacc.2009.06.005.
- [383] P. Weeke *et al.*, "Exome Sequencing Implicates an Increased Burden of Rare Potassium Channel Variants in the Risk of Drug-Induced Long QT Interval Syndrome," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 63, no. 14, pp. 1430–1437, 2014, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2014.01.031>.
- [384] S. Kääb *et al.*, "A large candidate gene survey identifies the KCNE1 D85N polymorphism as a possible modulator of drug-induced torsades de pointes," *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 5, no. 1, pp. 91–99, Feb. 2012, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.111.960930.
- [385] P. Marstrand, A. H. Christensen, E. D. Bartels, and J. Theilade, "Citalopram and the KCNE1 D85N variant: a case report on the implications of a genetic modifier," *Eur. Hear. J. - Case Reports*, vol. 2, no. 4, p. yty106, Dec. 2018, doi: 10.1093/ehjcr/yty106.
- [386] L. Crotti *et al.*, "KCNH2-K897T is a genetic modifier of latent congenital long-QT syndrome," *Circulation*, vol. 112, no. 9, pp. 1251–1258, Aug. 2005, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.549071.
- [387] D. W. Van Norstrand, D. J. Tester, and M. J. Ackerman, "Overrepresentation of the proarrhythmic, sudden death predisposing sodium channel polymorphism S1103Y in a population-based cohort of African-

- American sudden infant death syndrome,” *Hear. Rhythm*, vol. 5, no. 5, pp. 712–715, May 2008, doi: 10.1016/j.hrthm.2008.02.012.
- [388] Y. Jamshidi *et al.*, “Common variation in the NOS1AP gene is associated with drug-induced QT prolongation and ventricular arrhythmia,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 60, no. 9, pp. 841–850, Aug. 2012, doi: 10.1016/j.jacc.2012.03.031.
- [389] K. C. Chang *et al.*, “CAPON modulates cardiac repolarization via neuronal nitric oxide synthase signaling in the heart,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 105, no. 11, pp. 4477–4482, Mar. 2008, doi: 10.1073/pnas.0709118105.
- [390] M. Eijgelsheim *et al.*, “Identification of a common variant at the NOS1AP locus strongly associated to QT-interval duration,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 18, no. 2, pp. 347–357, 2009, doi: 10.1093/hmg/ddn341.
- [391] C. Newton-Cheh *et al.*, “Common variants at ten loci influence QT interval duration in the QTGEN Study,” *Nat. Genet.*, vol. 41, no. 4, pp. 399–406, Apr. 2009, doi: 10.1038/ng.364.
- [392] K. Aberg *et al.*, “Genome-wide association study of antipsychotic-induced QTc interval prolongation,” *Pharmacogenomics J.*, vol. 12, no. 2, pp. 165–172, Apr. 2012, doi: 10.1038/tj.2010.76.
- [393] S. Volpi *et al.*, “Whole genome association study identifies polymorphisms associated with QT prolongation during iloperidone treatment of schizophrenia,” *Mol. Psychiatry*, vol. 14, no. 11, pp. 1024–1031, Nov. 2009, doi: 10.1038/mp.2008.52.
- [394] E. R. Behr *et al.*, “Genome wide analysis of drug-induced torsades de pointes: Lack of common variants with large effect sizes,” *PLoS One*, vol. 8, no. 11, Nov. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0078511.
- [395] J. M. Fish and C. Antzelevitch, “Role of sodium and calcium channel block in unmasking the Brugada syndrome,” *Hear. Rhythm*, vol. 1, no. 2, pp. 210–217, Jul. 2004, doi: 10.1016/j.hrthm.2004.03.061.
- [396] I. Turker, T. Ai, H. Itoh, and M. Horie, “Drug-induced fatal arrhythmias: Acquired long QT and Brugada syndromes,” *Pharmacol. Ther.*, May 2017, doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.05.001.
- [397] C. R. Bezzina *et al.*, “Common sodium channel promoter haplotype in Asian subjects underlies variability in cardiac conduction,” *Circulation*, vol. 113, no. 3, pp. 338–344, Jan. 2006, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.580811.
- [398] I. Splawski *et al.*, “Variant of SCN5A sodium channel implicated in risk of cardiac arrhythmia,” *Science (80-. )*, vol. 297, no. 5585, pp. 1333–1336, Aug. 2002, doi: 10.1126/science.1073569.
- [399] T. Isik *et al.*, “A novel SCN5A mutation associated with drug induced Brugada type ECG,” *PLoS One*, vol. 11, no. 8, Aug. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0161872.
- [400] Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, Ed., *Introducción a las interacciones farmacológicas*, 1ª. Madrid, 2013.
- [401] U. M. Zanger and M. Schwab, “Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation,” *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 138, no. 1. Pharmacol Ther, pp. 103–141, Apr. 2013, doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007.
- [402] F. P. Guengerich, “Cytochrome P450 and chemical toxicology,” *Chemical Research in Toxicology*, vol. 21, no. 1. American Chemical Society, pp. 70–83, Jan. 2008, doi: 10.1021/tx700079z.
- [403] C. R. Fulton *et al.*, “Pharmacogenetics and Practice: Tailoring Prescribing for Safety and Effectiveness,” *J. Nurse Pract.*, vol. 14, no. 10, pp. 697–704.e1, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.nurpra.2018.09.021.
- [404] C. Barbui *et al.*, “Antipsychotic dose mediates the association between polypharmacy and corrected QT interval,” *PLoS One*, vol. 11, no. 2, Feb. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0148212.
- [405] N. B. Sandson, S. C. Armstrong, and K. L. Cozza, “An overview of psychotropic drug-drug interactions,” *Psychosomatics*, vol. 46, no. 5, pp. 464–494, 2005, doi: 10.1176/appi.psy.46.5.464.
- [406] E. J. Cicali, D. M. Smith, B. Q. Duong, L. G. Kovar, L. H. Cavallari, and J. A. Johnson, “A Scoping Review of the Evidence Behind Cytochrome P450 2D6 Isoenzyme Inhibitor Classifications,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 108, no. 1, pp. 116–125, Jul. 2020, doi: 10.1002/cpt.1768.
- [407] F. Storelli, A. Matthey, S. Lenglet, A. Thomas, J. Desmeules, and Y. Daali, “Impact of CYP2D6

- Functional Allelic Variations on Phenoconversion and Drug–Drug Interactions,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 104, no. 1, pp. 148–157, Jul. 2018, doi: 10.1002/cpt.889.
- [408] R. H. Waring, “Cytochrome P450: genotype to phenotype,” *Xenobiotica*, vol. 50, no. 1. Taylor and Francis Ltd, pp. 9–18, Jan. 02, 2020, doi: 10.1080/00498254.2019.1648911.
- [409] Á. F. Kiss, D. Vaskó, M. T. Déri, K. Tóth, and K. Monostory, “Combination of CYP2C19 genotype with non-genetic factors evoking phenoconversion improves phenotype prediction,” *Pharmacol. Reports*, vol. 70, no. 3, pp. 525–532, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.pharep.2017.12.001.
- [410] A. Gaedigk, K. Sangkuhl, M. Whirl-Carrillo, T. Klein, J. S. Leeder, and J. Steven Leeder, “Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations,” *Genet. Med.*, vol. 19, no. 1, pp. 69–76, Jan. 2017, doi: 10.1038/gim.2016.80.
- [411] A. Gaedigk, M. Ingelman-Sundberg, N. A. Miller, J. S. Leeder, M. Whirl-Carrillo, and T. E. Klein, “The Pharmacogene Variation (PharmVar) Consortium: Incorporation of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database,” vol. 103, no. 3, pp. 399–401, Mar. 2018, doi: 10.1002/cpt.910.
- [412] C. A. Altar, J. Hornberger, A. Shewade, V. Cruz, J. Garrison, and D. Mrazek, “Clinical validity of cytochrome P450 metabolism and serotonin gene variants in psychiatric pharmacotherapy,” *Int. Rev. Psychiatry*, vol. 25, no. 5, pp. 509–533, 2013, doi: 10.3109/09540261.2013.825579.
- [413] A. Mahgoub, L. . Dring, J. . Idle, R. Lancaster, and R. . Smith, “POLYMORPHIC HYDROXYLATION OF DEBRISOQUINE IN MAN,” *Lancet*, vol. 310, no. 8038, pp. 584–586, Sep. 1977, doi: 10.1016/S0140-6736(77)91430-1.
- [414] U. M. Zanger, S. Raimundo, and M. Eichelbaum, “Cytochrome P450 2D6: Overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry,” *Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology*, vol. 369, no. 1. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, pp. 23–37, Jan. 2004, doi: 10.1007/s00210-003-0832-2.
- [415] T. Shimada, H. Yamazaki, M. Mimura, Y. Inui, and F. P. Guengerich, “Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians,” *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 270, no. 1, 1994.
- [416] A. Saravanakumar, A. Sadighi, R. Ryu, and F. Akhlaghi, “Physicochemical Properties, Biotransformation, and Transport Pathways of Established and Newly Approved Medications: A Systematic Review of the Top 200 Most Prescribed Drugs vs. the FDA-Approved Drugs Between 2005 and 2016,” *Clinical Pharmacokinetics*, vol. 58, no. 10. Springer International Publishing, pp. 1281–1294, Oct. 01, 2019, doi: 10.1007/s40262-019-00750-8.
- [417] M. Ingelman-Sundberg, *Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity*, vol. 5, no. 1. Nature Publishing Group, 2005, pp. 6–13.
- [418] “CYTOCHROME P450 DRUG INTERACTION TABLE - Drug Interactions.” <https://drug-interactions.medicine.iu.edu/MainTable.aspx> (accessed Oct. 04, 2020).
- [419] M. H. Heim and U. A. Meyer, “Evolution of a highly polymorphic human cytochrome P450 gene cluster: CYP2D6,” *Genomics*, vol. 14, no. 1, pp. 49–58, Sep. 1992, doi: 10.1016/S0888-7543(05)80282-4.
- [420] K. E. Caudle *et al.*, “Standardizing CYP2D6 Genotype to Phenotype Translation: Consensus Recommendations from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium and Dutch Pharmacogenetics Working Group,” vol. 13, no. 1, pp. 116–124, Jan. 2020, doi: 10.1111/cts.12692.
- [421] A. LLerena, R. Berecz, A. De la Rubia, and P. Dorado, “QTc interval lengthening is related to CYP2D6 hydroxylation capacity and plasma concentration of thioridazine in patients,” *J. Psychopharmacol.*, vol. 16, no. 4, pp. 361–364, 2002, doi: 10.1177/026988110201600411.
- [422] A. L. Cartwright, K. J. Wilby, S. Corrigan, and M. H. Ensom, “Pharmacogenetics of Risperidone: A Systematic Review of the Clinical Effects of CYP2D6 Polymorphisms,” *Ann. Pharmacother.*, vol. 47, no. 3, pp. 350–360, Mar. 2013, doi: 10.1345/aph.1R333.
- [423] S. G. Potkin, S. Preskorn, M. Hochfeld, and X. Meng, “A thorough QTc study of 3 doses of iloperidone including metabolic inhibition via CYP2D6 and/or CYP3A4 and a comparison to quetiapine and ziprasidone,” *J. Clin. Psychopharmacol.*, vol. 33, no. 1, pp. 3–10, Feb. 2013, doi:



- 10.1097/JCP.0b013e31827c0314.
- [424] M. Desai *et al.*, “Pharmacokinetics and QT interval pharmacodynamics of oral haloperidol in poor and extensive metabolizers of CYP2D6,” *Pharmacogenomics J.*, vol. 3, no. 2, pp. 105–113, 2003, doi: 10.1038/sj.tpj.6500160.
  - [425] J. Y. Park *et al.*, “Combined effects of itraconazole and CYP2D6\*10 genetic polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of haloperidol in healthy subjects,” *J. Clin. Psychopharmacol.*, vol. 26, no. 2, pp. 135–142, Apr. 2006, doi: 10.1097/01.jcp.0000203199.88581.c3.
  - [426] R. H. K. Thanacoody, A. K. Daly, J. G. Reilly, I. N. Ferrier, and S. H. L. Thomas, “Factors affecting drug concentrations and QT interval during thioridazine therapy,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 82, no. 5, pp. 555–565, Nov. 2007, doi: 10.1038/sj.clpt.6100195.
  - [427] H. Food and Drug Administration, “Table of Pharmacogenetic Associations | FDA.” <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations> (accessed Sep. 21, 2020).
  - [428] A. F. Pardiñas *et al.*, “Pharmacogenomic variants and drug interactions identified through the genetic analysis of clozapine metabolism,” *Am. J. Psychiatry*, vol. 176, no. 6, pp. 477–486, Jun. 2019, doi: 10.1176/appi.ajp.2019.18050589.
  - [429] “UniProt.” <https://www.uniprot.org/> (accessed Oct. 04, 2020).
  - [430] M. R. Botton *et al.*, “PharmVar GeneFocus: CYP2C19,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, p. cpt.1973, Jul. 2020, doi: 10.1002/cpt.1973.
  - [431] K. E. Caudle *et al.*, “Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC),” *Genet. Med.*, vol. 19, no. 2, pp. 215–223, Feb. 2017, doi: 10.1038/gim.2016.87.
  - [432] A. Gaedigk, S. D. Simon, R. E. Pearce, L. D. L. Bradford, M. J. Kennedy, and J. S. Leeder, “The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype,” vol. 83, no. 2, pp. 234–242, Feb. 2008, doi: 10.1038/sj.clpt.6100406.
  - [433] M. J. Cooke and W. S. Waring, “Citalopram and cardiac toxicity,” *European Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 69, no. 4, Eur J Clin Pharmacol, pp. 755–760, Apr. 2013, doi: 10.1007/s00228-012-1408-1.
  - [434] A. R. Eugene, “Optimizing drug selection in psychopharmacology based on 40 significant CYP2C19- And CYP2D6-biased adverse drug reactions of selective serotonin reuptake inhibitors,” *PeerJ*, vol. 2019, no. 10, 2019, doi: 10.7717/peerj.7860.
  - [435] J. K. Hicks *et al.*, “Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and CYP2C19 Genotypes and Dosing of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors.,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 98, no. 2, pp. 127–34, Aug. 2015, doi: 10.1002/cpt.147.
  - [436] S. Cui *et al.*, “The Role of Serotonin in Ventricular Repolarization in Pregnant Mice,” *Yonsei Med. J.*, vol. 59, no. 2, p. 279, Mar. 2018, doi: 10.3349/ymj.2018.59.2.279.
  - [437] H. Food and Drug Administration, “Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling | FDA.” <https://www.fda.gov/drugs/science-and-research-drugs/table-pharmacogenomic-biomarkers-drug-labeling> (accessed Sep. 20, 2020).
  - [438] A. E. de M. y P. Sanitarios, “FICHA TÉCNICA CITALOPRAM.”
  - [439] Y. Kumar, S. Kung, and G. Shinozaki, “CYP2C19 variation, not citalopram dose nor serum level, is associated with QTc prolongation,” *J. Psychopharmacol.*, vol. 28, no. 12, pp. 1143–1148, Dec. 2014, doi: 10.1177/0269881114543720.
  - [440] S. Ilgin *et al.*, “Evidence for cardiotoxicity associated with sertraline in rats,” vol. 7, no. 5, pp. 817–825, Sep. 2018, doi: 10.1039/c8tx00072g.
  - [441] H. V. Solomon, K. W. Cates, and K. J. Li, “Does obtaining CYP2D6 and CYP2C19 pharmacogenetic testing predict antidepressant response or adverse drug reactions?,” *Psychiatry Research*, vol. 271. Elsevier Ireland Ltd, pp. 604–613, Jan. 01, 2019, doi: 10.1016/j.psychres.2018.12.053.

- [442] K. E. Thummel and G. R. Wilkinson, "In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A," *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 38. Annual Reviews Inc., pp. 389–430, 1998, doi: 10.1146/annurev.pharmtox.38.1.389.
- [443] K. I. Fujita, "Food-drug interactions via human cytochrome P450 3A (CYP3A)," *Drug Metabolism and Drug Interactions*, vol. 20, no. 4. Freund Publishing House Ltd, pp. 195–217, 2004, doi: 10.1515/DMDI.2004.20.4.195.
- [444] R. C. Owens and T. D. Nolin, "Antimicrobial-Associated QT Interval Prolongation: Pointes of Interest." Accessed: Sep. 29, 2020. [Online]. Available: <https://academic.oup.com/cid/article/43/12/1603/278706>.
- [445] J. S. Floyd *et al.*, "Large-scale pharmacogenomic study of sulfonylureas and the QT, JT and QRS intervals: CHARGE Pharmacogenomics Working Group," *Pharmacogenomics J.*, vol. 18, no. 1, pp. 127–135, Jan. 2018, doi: 10.1038/tpj.2016.90.
- [446] A. Llerena, R. Berecz, P. Dorado, A. De La Rubis, and A. de la Rubia, "QTc Interval, CYP2D6 and CYP2C9 Genotypes and Risperidone Plasma Concentrations," *J. Psychopharmacol.*, vol. 18, no. 2, pp. 189–193, Jun. 2004, doi: 10.1177/0269881104042618.
- [447] J. Matthaei *et al.*, "Heritability of Caffeine Metabolism: Environmental Effects Masking Genetic Effects on CYP1A2 Activity but Not on NAT2," *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 100, no. 6, pp. 606–616, Dec. 2016, doi: 10.1002/cpt.444.
- [448] M. Na Takuathung, N. Hanprasertpong, S. Teekachunhatean, and N. Koonrunsesomboon, "Impact of CYP1A2 genetic polymorphisms on pharmacokinetics of antipsychotic drugs: a systematic review and meta-analysis," *Acta Psychiatrica Scandinavica*, vol. 139, no. 1. Blackwell Publishing Ltd, pp. 15–25, Jan. 01, 2019, doi: 10.1111/acps.12947.
- [449] Y. Suzuki *et al.*, "Effect of risperidone metabolism and P-glycoprotein gene polymorphism on QT interval in patients with schizophrenia," *Pharmacogenomics J.*, vol. 14, no. 5, pp. 452–456, Oct. 2014, doi: 10.1038/tpj.2014.6.
- [450] A. J. L. H. J. Aarnoudse *et al.*, "Common ATP-binding cassette B1 variants are associated with increased digoxin serum concentration," *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 18, no. 4, pp. 299–305, Apr. 2008, doi: 10.1097/FPC.0b013e3282f70458.
- [451] B. F. McBride, T. Yang, and D. M. Roden, "Influence of the G2677T/C3435T haplotype of MDR1 on P-glycoprotein trafficking and ibutilide-induced block of HERG," *Pharmacogenomics J.*, vol. 9, no. 3, pp. 194–201, 2009, doi: 10.1038/tpj.2009.1.
- [452] F. Corponi *et al.*, "Corrected QT interval prolongation in psychopharmacological treatment and its modulation by genetic variation," *Neuropsychobiology*, vol. 77, no. 2, pp. 67–72, Feb. 2019, doi: 10.1159/000493400.
- [453] F. Carrasco-Ramiro, R. Peiró-Pastor, and B. Aguado, "Human genomics projects and precision medicine," *Gene Therapy*, vol. 24, no. 9. Nature Publishing Group, pp. 551–561, Sep. 01, 2017, doi: 10.1038/gt.2017.77.
- [454] M. J. Ackerman *et al.*, "HRS/EHRA Expert Consensus Statement on the State of Genetic Testing for the Channelopathies and Cardiomyopathies," *Hear. Rhythm*, vol. 8, no. 8, pp. 1308–1339, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.hrthm.2011.05.020.
- [455] S. M. Al-Khatib *et al.*, "2017 AHA/ACC/HRS Guideline for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 72, no. 14, pp. e91–e220, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2017.10.054.
- [456] J. Jiménez-Jáimez *et al.*, "Diagnóstico clínico y genético de la muerte súbita cardiaca de origen no isquémico," vol. 70, no. 10, pp. 808–816, 2017, doi: 10.1016/j.recesp.2017.01.010.
- [457] K. D. Wilson *et al.*, "A Rapid, High-Quality, Cost-Effective, Comprehensive and Expandable Targeted Next-Generation Sequencing Assay for Inherited Heart Diseases," *Circ. Res.*, vol. 117, no. 7, pp. 603–611, Sep. 2015, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306723.
- [458] O. Campuzano *et al.*, "Molecular autopsy in a cohort of infants died suddenly at rest," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 37, pp. 54–63, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.fsigen.2018.07.023.



- [459] S. Scheiper *et al.*, “Sudden unexpected death in the young — Value of massive parallel sequencing in postmortem genetic analyses,” *Forensic Sci. Int.*, vol. 293, pp. 70–76, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.forsciint.2018.09.034.
- [460] D. Sims, I. Sudbery, N. E. Illott, A. Heger, and C. P. Ponting, “Sequencing depth and coverage: Key considerations in genomic analyses,” *Nature Reviews Genetics*, vol. 15, no. 2, Nat Rev Genet, pp. 121–132, Feb. 17, 2014, doi: 10.1038/nrg3642.
- [461] P. Hartman *et al.*, “Next generation sequencing for clinical diagnostics: Five year experience of an academic laboratory,” *Mol. Genet. Metab. Reports*, vol. 19, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.ymgmr.2019.100464.
- [462] J. Mates *et al.*, “Sudden Cardiac Death and Copy Number Variants: What Do We Know after 10 Years of Genetic Analysis?,” *Forensic Science International: Genetics*, vol. 47, Elsevier Ireland Ltd, Jul. 01, 2020, doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102281.
- [463] C. Marschall, A. Moscu-Gregor, and H.-G. Klein, “Variant panorama in 1,385 index patients and sensitivity of expanded next-generation sequencing panels in arrhythmogenic disorders,” *Cardiovasc. Diagn. Ther.*, vol. 9, no. S2, pp. S292–S298, Oct. 2019, doi: 10.21037/cdt.2019.06.06.
- [464] F. Mazzarotto *et al.*, “Defining the diagnostic effectiveness of genes for inclusion in panels: the experience of two decades of genetic testing for hypertrophic cardiomyopathy at a single center,” *Genet. Med.*, vol. 21, no. 2, pp. 284–292, Feb. 2019, doi: 10.1038/s41436-018-0046-0.
- [465] American College of Medical Genetics and Genomics Board of Directors, “The use of ACMG secondary findings recommendations for general population screening: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG),” *Genet. Med.*, doi: 10.1038/s41436-019.
- [466] O. J. Dillon *et al.*, “Exome sequencing has higher diagnostic yield compared to simulated disease-specific panels in children with suspected monogenic disorders,” *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 26, no. 5, pp. 644–651, May 2018, doi: 10.1038/s41431-018-0099-1.
- [467] P. A. Long, J. M. Evans, and T. M. Olson, “Exome sequencing establishes diagnosis of Alström syndrome in an infant presenting with non-syndromic dilated cardiomyopathy,” *Am. J. Med. Genet. Part A*, vol. 167, no. 4, pp. 886–890, Apr. 2015, doi: 10.1002/ajmg.a.36994.
- [468] O. Campuzano *et al.*, “Genetic Variants as Sudden-Death Risk Markers in Inherited Arrhythmogenic Syndromes: Personalized Genetic Interpretation,” *J. Clin. Med.*, vol. 9, no. 6, p. 1866, Jun. 2020, doi: 10.3390/jcm9061866.
- [469] S. Richards *et al.*, “Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology,” *Genet Med*, vol. 17, no. 5, pp. 405–423, May 2015, doi: 10.1038/gim.2015.30.
- [470] R. E. Hershberger *et al.*, “Genetic Evaluation of Cardiomyopathy—A Heart Failure Society of America Practice Guideline,” *J. Card. Fail.*, vol. 24, no. 5, pp. 281–302, May 2018, doi: 10.1016/j.cardfail.2018.03.004.
- [471] R. HYLIND, S. CHANDLER, J. SKINNER, and D. ABRAMS, “Genetic Testing for Inherited Cardiac Arrhythmias: Current State-of-the-Art and Future Avenues,” *J. Innov. Card. Rhythm Manag.*, vol. 9, no. 11, pp. 3406–3416, Nov. 2018, doi: 10.19102/icrm.2018.091102.
- [472] L. M. Amendola *et al.*, “Performance of ACMG-AMP Variant-Interpretation Guidelines among Nine Laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 98, no. 6, pp. 1067–1076, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.ajhg.2016.03.024.
- [473] K. Nykamp *et al.*, “Sherloc: A comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria,” *Genet. Med.*, vol. 19, no. 10, pp. 1105–1117, Oct. 2017, doi: 10.1038/gim.2017.37.
- [474] M. A. Kelly *et al.*, “Adaptation and validation of the ACMG/AMP variant classification framework for MYH7-associated inherited cardiomyopathies: Recommendations by ClinGen’s Inherited Cardiomyopathy Expert Panel,” *Genet. Med.*, vol. 20, no. 3, pp. 351–359, Mar. 2018, doi: 10.1038/gim.2017.218.
- [475] J. S. Bennett *et al.*, “Reclassification of Variants of Uncertain Significance in Children with Inherited Arrhythmia Syndromes is Predicted by Clinical Factors,” *Pediatr. Cardiol.*, vol. 40, no. 8, pp. 1679–1687,

- Dec. 2019, doi: 10.1007/s00246-019-02203-2.
- [476] O. Campuzano *et al.*, “Reanalysis and reclassification of rare genetic variants associated with inherited arrhythmogenic syndromes,” *EBioMedicine*, vol. 54, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102732.
  - [477] O. Campuzano *et al.*, “Personalized interpretation and clinical translation of genetic variants associated with cardiomyopathies,” *Front. Genet.*, vol. 10, no. MAY, 2019, doi: 10.3389/fgene.2019.00450.
  - [478] E. Kayvanpour *et al.*, “Genotype-phenotype associations in dilated cardiomyopathy: meta-analysis on more than 8000 individuals,” *Clin. Res. Cardiol.*, vol. 106, no. 2, pp. 127–139, Feb. 2017, doi: 10.1007/s00392-016-1033-6.
  - [479] T. Jenewein *et al.*, “Genotype-phenotype dilemma in a case of sudden cardiac death with the E1053K mutation and a deletion in the SCN5A gene,” *Forensic Sci. Int.*, vol. 275, pp. 187–194, Jun. 2017, doi: 10.1016/j.forsciint.2017.02.038.
  - [480] A. L. Cirino *et al.*, *Role of Genetic Testing in Inherited Cardiovascular Disease: A review*, vol. 2, no. 10. American Medical Association, 2017, pp. 1153–1160.
  - [481] C. y B. S. Ministerio de Sanidad, “Criterios, acordados por el Consejo Interterritorial, que deben cumplir los CSUR para ser designados como de referencia del Sistema Nacional de Salud, actualizados según los criterios homologados por el Consejo Interterritorial.” <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/CentrosDeReferencia/docs/ListaCSUR.pdf> (accessed Sep. 20, 2020).
  - [482] M. J. Ackerman *et al.*, “HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: This document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA),” *Hear. Rhythm*, vol. 8, no. 8, pp. 1308–1339, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.hrthm.2011.05.020.
  - [483] M. Santori *et al.*, “Broad-based molecular autopsy: a potential tool to investigate the involvement of subtle cardiac conditions in sudden unexpected death in infancy and early childhood,” *Arch. Dis. Child.*, vol. 100, no. 10, pp. 952–6, Oct. 2015, doi: 10.1136/archdischild-2015-308200.
  - [484] M. Zhang *et al.*, “Mutations of desmoglein-2 in sudden death from arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and sudden unexplained death,” *Forensic Sci. Int.*, vol. 255, pp. 85–88, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.forsciint.2015.07.052.
  - [485] S. Rizzo *et al.*, “Intercalated disc abnormalities, reduced Na<sup>+</sup> current density, and conduction slowing in desmoglein-2 mutant mice prior to cardiomyopathic changes,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 95, no. 4, pp. 409–418, Sep. 2012, doi: 10.1093/cvr/cvs219.
  - [486] M. Cerrone *et al.*, “Sodium current deficit and arrhythmogenesis in a murine model of plakophilin-2 haploinsufficiency,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 95, no. 4, pp. 460–468, Sep. 2012, doi: 10.1093/cvr/cvs218.
  - [487] R. Mango *et al.*, “Next generation sequencing and linkage analysis for the molecular diagnosis of a novel overlapping syndrome characterized by hypertrophic cardiomyopathy and typical electrical instability of brugada syndrome,” *Circ. J.*, vol. 80, no. 4, pp. 938–949, Mar. 2016, doi: 10.1253/circj.CJ-15-0685.
  - [488] R. Coppini, C. Ferrantini, A. Mugelli, C. Poggesi, and E. Cerbai, “Altered Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> homeostasis in human hypertrophic cardiomyopathy: Implications for arrhythmogenesis,” *Front. Physiol.*, vol. 9, no. OCT, p. 16, Oct. 2018, doi: 10.3389/fphys.2018.01391.
  - [489] C. Semsarian, J. Ingles, and A. A. M. M. Wilde, *Sudden cardiac death in the young: the molecular autopsy and a practical approach to surviving relatives*, vol. 36, no. 21. Oxford University Press, 2015, pp. 1290–1296.
  - [490] C. J. Miles and E. R. Behr, “The role of genetic testing in unexplained sudden death,” *Transl Res*, vol. 168, pp. 59–73, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.trsl.2015.06.007.
  - [491] E. L. Stattin *et al.*, “Genetic screening in sudden cardiac death in the young can save future lives,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 130, no. 1, pp. 59–66, Jan. 2016, doi: 10.1007/s00414-015-1237-8.
  - [492] O. Campuzano *et al.*, “Sudden Arrhythmic Death During Exercise: A Post-Mortem Genetic Analysis,” *Sport. Med.*, vol. 47, no. 10, pp. 2101–2115, Oct. 2017, doi: 10.1007/s40279-017-0705-3.
  - [493] K. Michaud, P. Mangin, and B. S. Elger, “Genetic analysis of sudden cardiac death victims: A survey of

- current forensic autopsy practices,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 125, no. 3, pp. 359–366, May 2011, doi: 10.1007/s00414-010-0474-0.
- [494] J. C. Bonilla *et al.*, “Molecular autopsy in sudden cardiac death,” *Archivos de Cardiología de México*, vol. 88, no. 4. Instituto Nacional de Cardiología Ignazio Chavez, pp. 306–312, Oct. 01, 2018, doi: 10.1016/j.acmx.2018.06.001.
- [495] G. W. Shanks *et al.*, “Importance of Variant Interpretation in Whole-Exome Molecular Autopsy: Population-Based Case Series,” *Circulation*, vol. 137, no. 25, pp. 2705–2715, Jun. 2018, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031053.
- [496] C. Allegue *et al.*, “Genetic Analysis of Arrhythmogenic Diseases in the Era of NGS: The Complexity of Clinical Decision-Making in Brugada Syndrome,” *PLoS One*, vol. 10, no. 7, p. e0133037, Jul. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0133037.
- [497] M. Papadakis *et al.*, “Sudden Cardiac Death with Autopsy Findings of Uncertain Significance: Potential for Erroneous Interpretation,” *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.*, vol. 6, no. 3, pp. 588–596, Jun. 2013, doi: 10.1161/CIRCEP.113.000111.
- [498] S. Grassi *et al.*, “Genetic variants of uncertain significance: How to match scientific rigour and standard of proof in sudden cardiac death?,” *Leg. Med.*, vol. 45, p. 101712, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.legalmed.2020.101712.
- [499] B. B. Spear, M. Heath-Chiozzi, and J. Huff, “Clinical application of pharmacogenetics,” *Trends in Molecular Medicine*, vol. 7, no. 5. Elsevier Ltd, pp. 201–204, 2001, doi: 10.1016/S1471-4914(01)01986-4.
- [500] M. Pirmohamed *et al.*, “Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: Prospective analysis of 18 820 patients,” *Br. Med. J.*, vol. 329, no. 7456, pp. 15–19, Jul. 2004, doi: 10.1136/bmj.329.7456.15.
- [501] C. H. van der Wouden *et al.*, “Implementing Pharmacogenomics in Europe: Design and Implementation Strategy of the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 101, no. 3, pp. 341–358, Mar. 2017, doi: 10.1002/cpt.602.
- [502] E. C. Davies, C. F. Green, S. Taylor, P. R. Williamson, D. R. Mottram, and M. Pirmohamed, “Adverse drug reactions in hospital in-patients: A prospective analysis of 3695 patient-episodes,” *PLoS One*, vol. 4, no. 2, Feb. 2009, doi: 10.1371/journal.pone.0004439.
- [503] European Medicines Agency, “Guideline on key aspects for the use of pharmacogenomics in the pharmacovigilance of medicinal products,” Sep. 2015. Accessed: Sep. 27, 2020. [Online]. Available: [www.ema.europa.eu/contact](http://www.ema.europa.eu/contact).
- [504] C. H. Van Der Wouden *et al.*, “Generating evidence for precision medicine: Considerations made by the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium when designing and operationalizing the PREPARE study,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 30, no. 6, pp. 131–144, 2020, doi: 10.1097/FPC.0000000000000405.
- [505] G. Mukerjee, A. Huston, B. Kabakchiev, M. Piquette-Miller, R. van Schaik, and R. Dorfman, “User considerations in assessing pharmacogenomic tests and their clinical support tools,” *npj Genomic Med.*, vol. 3, no. 1, p. 26, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41525-018-0065-4.
- [506] P. C. D. Bank *et al.*, “Comparison of the Guidelines of the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium and the Dutch Pharmacogenetics Working Group,” *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, vol. 103, no. 4. Nature Publishing Group, pp. 599–618, Apr. 01, 2018, doi: 10.1002/cpt.762.
- [507] D. A. Mrazek and C. Lerman, “Facilitating clinical implementation of pharmacogenomics,” *JAMA - Journal of the American Medical Association*, vol. 306, no. 3. American Medical Association, pp. 304–305, Jul. 20, 2011, doi: 10.1001/jama.2011.1010.
- [508] E. Medicines Agency, “Concept paper on an addendum on terms and concepts of pharmacogenomic features related to metabolism to the Guideline on the use of pharmacogenetic methodologies in the pharmacokinetic evaluation of medicinal products (EMA/CHMP/37646/2009),” 2017. Accessed: Sep. 21, 2020. [Online]. Available: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/11/WC5001](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/11/WC5001).
- [509] S. Van Driest *et al.*, “Clinically Actionable Genotypes Among 10,000 Patients With Preemptive Pharmacogenomic Testing,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 95, no. 4, pp. 423–431, Apr. 2014, doi:

- 10.1038/clpt.2013.229.
- [510] J. M. Pulley *et al.*, “Operational implementation of prospective genotyping for personalized medicine: The design of the vanderbilt PREDICT project,” vol. 92, no. 1, pp. 87–95, Jul. 2012, doi: 10.1038/clpt.2011.371.
  - [511] M. Pirmohamed *et al.*, “A Randomized Trial of Genotype-Guided Dosing of Warfarin,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 369, no. 24, pp. 2294–2303, Dec. 2013, doi: 10.1056/NEJMoa1311386.
  - [512] S. J. Bielinski *et al.*, “Preemptive genotyping for personalized medicine: Design of the right drug, right dose, right timedusing genomic data to individualize treatment protocol,” *Mayo Clin. Proc.*, vol. 89, no. 1, pp. 25–33, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.mayocp.2013.10.021.
  - [513] E. Bowton *et al.*, “Biobanks and electronic medical records: Enabling cost-effective research,” *Science Translational Medicine*, vol. 6, no. 234. American Association for the Advancement of Science, pp. 234cm3-234cm3, Apr. 30, 2014, doi: 10.1126/scitranslmed.3008604.
  - [514] L. H. Cavallari *et al.*, “The IGNITE Pharmacogenetics Working Group: An Opportunity for Building Evidence with Pharmacogenetic Implementation in a Real-World Setting,” *Clinical and Translational Science*, vol. 10, no. 3. Blackwell Publishing Ltd, pp. 143–146, May 01, 2017, doi: 10.1111/cts.12456.
  - [515] Dhavendra Kumar and Perry Elliott, *Cardiovascular Genetics and Genomics. Principles and Clinical Practice*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG.
  - [516] J. G. Pouget, T. A. Shams, A. K. Tiwari, and D. J. Müller, “Pharmacogenetics and outcome with antipsychotic drugs,” vol. 16, no. 4, pp. 555–566, Dec. 2014, Accessed: Mar. 01, 2017. [Online]. Available: [www.dialogues-cns.org](http://www.dialogues-cns.org).
  - [517] C. A. Bousman and B. W. Dunlop, “Genotype, phenotype, and medication recommendation agreement among commercial pharmacogenetic-based decision support tools,” *Pharmacogenomics J.*, vol. 18, no. 5, pp. 613–622, Sep. 2018, doi: 10.1038/s41397-018-0027-3.
  - [518] “Guidelines – CPIC.” <https://cpicpgx.org/guidelines/> (accessed Sep. 28, 2020).
  - [519] M. J. Arranz *et al.*, “A pharmacogenetic intervention for the improvement of the safety profile of antipsychotic treatments,” *Transl. Psychiatry*, vol. 9, no. 1, pp. 1–8, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41398-019-0511-9.
  - [520] J. R. Giudicessi, D. M. Roden, A. A. M. Wilde, and M. J. Ackerman, “Classification and Reporting of Potentially Proarrhythmic Common Genetic Variation in Long QT Syndrome Genetic Testing,” *Circulation*, vol. 137, no. 6, pp. 619–630, Feb. 2018, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030142.
  - [521] L. M. Hodges *et al.*, “Very important pharmacogene: KCNH2,” *Pharmacogenetics and Genomics*, 2011.
  - [522] J. E. Tisdale *et al.*, “Effectiveness of a clinical decision support system for reducing the risk of qt interval prolongation in hospitalized patients,” *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes*, vol. 7, no. 3, pp. 381–390, 2014, doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.113.000651.
  - [523] A. Sorita, J. M. Bos, B. W. Morlan, R. F. Tarrell, M. J. Ackerman, and P. J. Caraballo, “Impact of clinical decision support preventing the use of QT-prolonging medications for patients at risk for torsade de pointes,” *J. Am. Med. Informatics Assoc.*, vol. 22, no. e1, pp. e21–e27, 2015, doi: 10.1136/amiajnl-2014-002896.
  - [524] “BrugadaDrugs.org | Safe drug use and the Brugada syndrome.” <https://www.brugadadrugs.org/> (accessed Aug. 19, 2020).
  - [525] R. D. Bagnall, J. Das K, J. Duflou, and C. Semsarian, “Exome analysis–based molecular autopsy in cases of sudden unexplained death in the young,” *Hear. Rhythm*, vol. 11, no. 4, pp. 655–662, Apr. 2014, doi: 10.1016/j.hrthm.2014.01.017.
  - [526] D. Ng *et al.*, “Interpreting secondary cardiac disease variants in an exome cohort,” *Circ Cardiovasc Genet*, vol. 6, no. 4, pp. 337–346, 2013, doi: 10.1161/circgenetics.113.000039.
  - [527] D. G. MacArthur *et al.*, “Guidelines for investigating causality of sequence variants in human disease,” *Nature*, vol. 508, no. 7497, pp. 469–476, 2014, doi: 10.1038/nature13127<http://www.nature.com/nature/journal/v508/n7497/abs/nature13127.html#suppleme>



- ntary-information.
- [528] C. L. Hertz *et al.*, "Next-generation sequencing of 100 candidate genes in young victims of suspected sudden cardiac death with structural abnormalities of the heart," *Int. J. Legal Med.*, vol. 130, no. 1, pp. 91–102, Jan. 2016, doi: 10.1007/s00414-015-1261-8.
  - [529] M. Brion *et al.*, "Sarcomeric gene mutations in sudden infant death syndrome (SIDS)," *Forensic Sci. Int.*, vol. 219, no. 1–3, pp. 278–281, Jun. 2012, doi: 10.1016/j.forsciint.2012.01.018.
  - [530] N. Lahrouchi *et al.*, "Utility of Post-Mortem Genetic Testing in Cases of Sudden Arrhythmic Death Syndrome," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 69, no. 17, pp. 2134–2145, May 2017, doi: 10.1016/j.jacc.2017.02.046.
  - [531] P. Chen, "Optimized Treatment Strategy for Depressive Disorder," in *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 1180, Springer, 2019, pp. 201–217.
  - [532] J. M. Kane and C. U. Correll, "Optimizing treatment choices to improve adherence and outcomes in schizophrenia," *Journal of Clinical Psychiatry*, vol. 80, no. 5. Physicians Postgraduate Press Inc., 2019, doi: 10.4088/JCP.IN18031AH1C.
  - [533] M. Santori *et al.*, "Sudden infant death as the most severe phenotype caused by genetic modulation in a family with atrial fibrillation," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 43, p. 102159, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.fsigen.2019.102159.
  - [534] B. D. Anson *et al.*, "Molecular and functional characterization of common polymorphisms in HERG (KCNH2) potassium channels," *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 286, no. 6 55-6, Jun. 2004, doi: 10.1152/ajpheart.00891.2003.
  - [535] K. J. Paavonen *et al.*, "Functional characterization of the common amino acid 897 polymorphism of the cardiac potassium channel KCNH2 (HERG)," *Cardiovasc. Res.*, vol. 59, no. 3, pp. 603–611, Sep. 2003, doi: 10.1016/S0008-6363(03)00458-9.
  - [536] J. R. Giudicessi, A. A. M. Wilde, and M. J. Ackerman, "The genetic architecture of long QT syndrome: A critical reappraisal," *Trends in Cardiovascular Medicine*, vol. 28, no. 7. Elsevier Inc., pp. 453–464, Oct. 01, 2018, doi: 10.1016/j.tcm.2018.03.003.
  - [537] D. E. Arking *et al.*, "A common genetic variant in the NOS1 regulator NOS1AP modulates cardiac repolarization," *Nat. Genet.*, vol. 38, no. 6, pp. 644–651, Jun. 2006, doi: 10.1038/ng1790.
  - [538] H. Holm *et al.*, "Several common variants modulate heart rate, PR interval and QRS duration," *Nat. Genet.*, vol. 42, no. 2, pp. 117–122, Feb. 2010, doi: 10.1038/ng.511.
  - [539] A. Pfeufer *et al.*, "Common variants at ten loci modulate the QT interval duration in the QTSCD Study," *Nat. Genet.*, vol. 41, no. 4, pp. 407–414, Apr. 2009, doi: 10.1038/ng.362.
  - [540] D. E. Arking *et al.*, "Genetic association study of QT interval highlights role for calcium signaling pathways in myocardial repolarization," *Nat. Genet.*, vol. 46, no. 8, pp. 826–836, Jun. 2014, doi: 10.1038/ng.3014.
  - [541] G. W. Abbott *et al.*, "MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia," *Cell*, vol. 97, no. 2, pp. 175–187, Apr. 1999, doi: 10.1016/S0092-8674(00)80728-X.
  - [542] E. Nof *et al.*, "LQT5 masquerading as LQT2: A dominant negative effect of KCNE1-D85N rare polymorphism on KCNH2 current," *Europace*, vol. 13, no. 10, pp. 1478–1483, Oct. 2011, doi: 10.1093/europace/eur184.
  - [543] A. Marjamaa *et al.*, "Common candidate gene variants are associated with QT interval duration in the general population," *J. Intern. Med.*, vol. 265, no. 4, pp. 448–458, Apr. 2009, doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.02026.x.
  - [544] K. Villatoro-Gómez *et al.*, "Molecular determinants of Kv7.1/KCNE1 channel inhibition by amitriptyline," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 152, pp. 264–271, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.bcp.2018.03.016.
  - [545] M. Brion *et al.*, "Involvement of hypertrophic cardiomyopathy genes in sudden infant death syndrome (SIDS)," *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, vol. 2, no. 1, pp. 495–496, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.fsigss.2009.09.040.

- [546] M. Rocchetti *et al.*, “Elucidating arrhythmogenic mechanisms of long-QT syndrome CALM1-F142L mutation in patient-specific induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 113, no. 5, pp. 531–541, Apr. 2017, doi: 10.1093/cvr/cvx006.
- [547] A. P. Landstrom *et al.*, “Novel long QT syndrome-associated missense mutation, L762F, in CACNA1C-encoded L-type calcium channel imparts a slower inactivation tau and increased sustained and window current,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 220, pp. 290–298, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.081.
- [548] B. I. Drögemöller, G. E. B. Wright, D. J. H. Niehaus, R. Emsley, and L. Warnich, “Next-generation sequencing of pharmacogenes: A critical analysis focusing on schizophrenia treatment,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 23, no. 12, pp. 666–674, 2013, doi: 10.1097/FPC.0000000000000006.
- [549] E. W. Chua *et al.*, “Cross-comparison of exome analysis, next-generation sequencing of amplicons, and the iPLEX® ADME PGx panel for pharmacogenomic profiling,” *Front. Pharmacol.*, vol. 7, no. JAN, p. 1, Jan. 2016, doi: 10.3389/fphar.2016.00001.
- [550] M. Gulilat *et al.*, “Targeted next generation sequencing as a tool for precision medicine,” *BMC Med. Genomics*, vol. 12, no. 1, Jun. 2019, doi: 10.1186/s12920-019-0527-2.
- [551] Y. J. Chae *et al.*, “Escitalopram block of hERG potassium channels,” *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, vol. 387, no. 1, pp. 23–32, Jan. 2014, doi: 10.1007/s00210-013-0911-y.
- [552] P. Thottathil *et al.*, “Risk of Cardiac Events in Patients With Asthma and Long-QT Syndrome Treated With Beta2 Agonists,” *Am. J. Cardiol.*, vol. 102, no. 7, pp. 871–874, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.amjcard.2008.05.029.
- [553] S. Dineen, K. Withrow, L. Voronovitch, F. Munshi, M. Wally Nawbary, and S. Lippmann, “QTc prolongation and high-dose olanzapine,” *Psychosomatics*, vol. 44, no. 2, pp. 174–175, 2003, doi: 10.1176/appi.psy.44.2.174.
- [554] S. H. Jo, H. K. Hong, S. H. Chong, K. H. Won, S. J. Jung, and H. Choe, “Clomipramine block of the hERG K<sup>+</sup> channel: Accessibility to F656 and Y652,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 592, no. 1–3, pp. 19–25, Sep. 2008, doi: 10.1016/j.ejphar.2008.06.094.
- [555] A. Yokono, S. Morita, T. Someya, G. Hirokane, M. Okawa, and K. Shimoda, “The effect of CYP2C19 and CYP2D6 genotypes on the metabolism of clomipramine in Japanese psychiatric patients,” *J. Clin. Psychopharmacol.*, vol. 21, no. 6, pp. 549–555, 2001, doi: 10.1097/00004714-200112000-00002.
- [556] S. M. Fogelman *et al.*, “O- and N-demethylation of venlafaxine in vitro by human liver microsomes and by microsomes from cDNA-transfected cells: Effect of metabolic inhibitors and SSRI antidepressants,” *Neuropsychopharmacology*, vol. 20, no. 5, pp. 480–490, May 1999, doi: 10.1016/S0893-133X(98)00113-4.
- [557] A. H. Veefkind, P. M. J. Haffmans, and E. Hoencamp, “Venlafaxine serum levels and CYP2D6 genotype,” *Ther. Drug Monit.*, vol. 22, no. 2, pp. 202–208, Apr. 2000, doi: 10.1097/00007691-200004000-00011.
- [558] “Ubiquitous Pharmacogenomics (U-PGx) | Making actionable pharmacogenomic data and effective treatment optimization accessible to every European citizen.” <http://upgx.eu/> (accessed Sep. 27, 2020).
- [559] “El Gobierno aprueba la convocatoria para lanzar la nueva infraestructura de Medicina de Precisión, IMPaCT - Ministerio de Ciencia e Innovación (es).” <https://www.ciencia.gob.es/porta1/site/MICINN/menuitem.edc7f2029a2be27d7010721001432ea0/?vgnextoid=9be7693dbe094710VgnVCM1000001d04140aRCRD&vgnextchannel=cf091f4368aef110VgnVC M1000001034e20aRCRD> (accessed Sep. 27, 2020).





## **ANEXOS**

## ANEXOS

**ANEXO I: PERMISOS DE COPYRIGHT DE LAS ILUSTRACIONES.**

ILUSTRACIÓN 1A y 1B: Adaptada de Dilson E. Rassier, 2017 con permiso de *American Physiological Society* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 1C. Adaptada de Semsarian *et al.*, 2015 con permiso de *Elsevier* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 2 Adaptada de Austin *et al.*, 2019 con permiso de *Springer Nature BV* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 3A. Adaptada de van der Velden J. and Stienen G., 2018 con permiso de *American Physiological Society* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 3B. Ilustración de elaboración propia creada con BioRender.com

ILUSTRACIÓN 4. Adaptada de Baró I. *et al.*, 2013 con permiso de *Springer London* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 5. Adaptado de <https://openstax.org/details/books/anatomy-and-physiology> bajo licencia *Creative Commons Attribution License v4.0.*

ILUSTRACIÓN 6. Adaptado de <https://openstax.org/details/books/anatomy-and-physiology> bajo licencia *Creative Commons Attribution 3.0 Unported*

ILUSTRACIÓN 7. Adaptado de Abrams *et al.*, 2014 con permiso de *Wolters Kluwer Health, Inc.* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 8. Adaptado de Wilde A. y Bezzina C, 2005 con permiso de *BMJ Publishing Group Ltd.* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 9. Adaptado de Chen y Priori, 2008 con permiso de *Elsevier* obtenido a través de *Copyright Clearance Center, Inc.*

ILUSTRACIÓN 10. Ilustración de elaboración propia creada con BioRender.com

ILUSTRACIÓN 11. Ilustración de elaboración propia y adaptada de [www.patientsacademy.eu](http://www.patientsacademy.eu) bajo licencia de *Creative Commons Attribution-NonCommercial International 4.0 License.*

ILUSTRACIÓN 12. Ilustración de elaboración propia creada con BioRender.com

ILUSTRACIÓN 13. Adaptado de Caudle *et al.*, 2020 bajo licencia de *Creative Commons Attribution-NonCommercial International 4.0 License*